



**UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA DE QUÍMICA EN ALIMENTOS**

**Obtención de azúcares reductores por hidrólisis ácida a partir de dos variedades de paja
(*Calamagrostis intermedia* y *Stipa ichu*)**

Autora: Mayra Alexandra Barreno Zurita
mayrabz-santv@hotmail.com

Tesis para optar por el Grado de QUÍMICA DE ALIMENTOS

Tutor: Dr. Fernando Augusto Novillo Logroño
[fernando.novillo752@facebook.com](https://www.facebook.com/fernando.novillo752)

Quito, Septiembre 2013

Barreno Zurita, Mayra Alexandra (2013). Obtención de azúcares reductores por hidrólisis ácida a partir de dos variedades de paja (*Calamagrostis intermedia* y *Stipa ichu*). Trabajo de investigación para optar por el grado de Química de Alimentos. Carrera de Química de Alimentos. Quito: UCE. 106 p.

DEDICATORIA

Quiero en primer lugar dedicar mi trabajo a Dios por darme la fuerza para poder culminar con una etapa en mi vida, a mi hijo Santiago el mismo que es mi motor, fuerza y fortaleza, a mi esposo quien ha sido mi amigo y compañero gracias por tu amor incondicional.

A mi padre que con su ejemplo, cariño y apoyo me ha demostrado ser el mejor padre del mundo, a mis hermanos por alegrar mi vida y a mis queridas amigas que sé que puedo contar siempre con ustedes y espero que nuestra amistad perdure a través de los años.

AGRADECIMIENTO

Quiero agradecer a la Universidad Central del Ecuador, a la Facultad de Ciencias Químicas por haberme impartido sus conocimientos. Al Doctor Fernando Novillo por permitirme realizar mi trabajo de titulación bajo su tutoría, persona que se ha ganado mi admiración y respeto debido a que es un gran profesional y amigo.

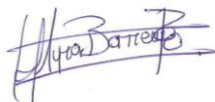
A la Dra. Teresa Gordon y Dra. Consuelo Andrade por ser parte de mi tribunal, por dedicar su tiempo, esfuerzo y ayuda a la culminación de mi trabajo, a mi esposo e hijo a quienes los amo mucho, gracias por estar siempre conmigo y ser la razón de mi ser.

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA DE QUÍMICA DE ALIMENTOS

Yo, Mayra Alexandra Barreno Zurita en calidad de autor del trabajo de investigación realizada sobre "Obtención de azúcares reductores por hidrólisis ácida a partir de dos variedades de paja (*Calamagrostis intermedia* y *Stipa ichu*)", por la presente autorizo a la UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR, hacer uso de todos los contenidos que me pertenecen o de parte de los que contienen esta obra, con fines estrictamente académicos o de investigación.

Los derechos que como autor me corresponden, con excepción de la presente autorización, seguirán vigentes a mi favor, de conformidad con lo establecido en los artículos 5, 6, 8, 19 y demás pertinentes de la Ley de Propiedad Intelectual y su Reglamento.

Quito, 16 de septiembre del 2013

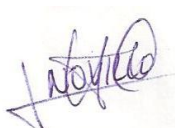


Mayra Barreno
C.I 1721627154

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA DE QUÍMICA DE ALIMENTOS

Por la presente, dejo constancia que he leído la Tesis presentado por la Señorita Mayra Alexandra Barreno Zurita para optar por el título profesional de Química en Alimentos cuyo tema es *“Obtención de azúcares reductores por hidrólisis ácida a partir de dos variedades de paja (Calamagrostis intermedia y Stipa Ichu)”* la misma que reúne los requerimientos, y los méritos para ser sometido a evaluación por el Tribunal Calificador.

En la ciudad de Quito, a los 07 días del mes de marzo del 2012.



Dr. Fernando Novillo L.
C.I. 170721652-7



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

INFORME DEL TRIBUNAL CALIFICADOR

Quito, 07-03-2012

Señor
DECANO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS
Presente

Señor Decano:


El Tribunal encargado de calificar la Tesis:.....
"Obtención de azúcares reductores por hidrólisis
ácida a partir de dos variedades de paja (Calamagrostis
intermedia y Stipa ichu)"
presentada por: Magra Alexandra Barreno Zurita
estudiante de la Carrera de: Química de Alimentos
luego del estudio y revisión correspondiente, resolvió:

APROBAR ☒ la Tesis con la NOTA de: VEINTE (20)
y autorizar para que la escriba definitivamente.


REPROBAR ☐ la Tesis.

Es cuanto podemos informar.

Atentamente,


PROFESOR
Nombre:
FERNANDO NOVILLO


PROFESOR
Nombre:
Consuelo Andrade G.


PROFESOR
Nombre:
TERESA GORDON

LUGAR DONDE SE REALIZÓ LA INVESTIGACIÓN

La investigación se realizó en los laboratorios 1-2 del Centro Académico de Química de la Universidad Central del Ecuador.

CONTENIDO

pág

CAPITULO I.....	1
1. PROBLEMA	1
1.1 Planteamiento del Problema:	1
1.2 Formulación del problema:	2
1.3 Objetivos:	2
1.3.1 Objetivo General:	2
1.3.2 Objetivos Específicos:	2
1.4 Importancia y Justificación:	2
CAPITULO II	4
2. MARCO TEORICO	4
2.1 Antecedentes:	4
2.2 Fundamento Teórico:	5
2.2.1 Familia:	5
2.2.2 Género:	10
2.2.3 Especies:	11
2.2.4 Celulosa:	13
2.2.5 Azúcares Reductores:	15
2.2.6 Fundamento metodológico:	16
CAPITULO III.....	17
3. METODOLOGÍA.....	17
3.1 Tema de la investigación:	17
3.2 Tipo de investigación:	17
3.3 Población y muestra:	17
3.3.1 Muestreo de la paja <i>Calamagrostis intermedia</i> y <i>Stipa ichu</i> :	17
3.3.2 Población:	17
3.3.3 Ubicación:	17
3.4 Diseño experimental:	18
3.5 Técnicas e instrumentos analíticos:	18
3.5.1 Materiales:	18
3.5.2 Reactivos:	19
3.5.3 Técnicas:	19
3.5.3.1 Preparación de la muestra:	19
3.5.3.2 Hidrólisis ácida:	19
3.5.3.3 Determinación de azúcares:	20
3.5.3.3.1 Reactivos:	20
3.5.3.3.2 Normalización de los reactivos Fehling:	21
3.5.3.3.3 Titulación aproximada de la solución de prueba:	21
3.5.3.3.4 Cálculo:	22
3.5.3.4 Diagramas de procesos:	23

CAPITULO IV	26
4. RESULTADOS Y DISCUSION.....	26
4.1 Análisis y discusión de resultados:.....	26
4.1.1 Cálculo del factor F:.....	26
4.1.2 Blancos de las muestras:	27
4.1.2.1 Determinación del blanco de la PCI:.....	27
4.1.2.2 Determinación del blanco de la PSI:	27
4.1.3 Muestra:.....	28
4.1.4 W:.....	28
4.2 Determinación de azúcar reductor de la PCI hidrolizada con HCl :	28
4.2.1 Hidrólisis de la (PCI) al 2% de HCl por 4h:.....	29
4.2.2 Hidrólisis de la (PCI) al 4% de HCl por 4h:.....	30
4.2.3 Hidrólisis de la (PCI) al 6% de HCl por 4h:.....	30
4.2.4 Hidrólisis de la (PCI) al 8% de HCl por 4h:.....	31
4.2.5 Hidrólisis de la (PCI) al 2% de HCl por 8h:.....	32
4.2.6 Hidrólisis de la (PCI) al 4% de HCl por 8h:.....	33
4.2.7 Hidrólisis de la (PCI) al 6% de HCl por 8h:.....	33
4.2.8 Hidrólisis de la (PCI) al 8% de HCl por 8h:.....	34
4.2.9 Hidrólisis de la (PCI) al 2% de HCl por 12h:.....	36
4.2.10 Hidrólisis de la (PCI) al 4% de HCl por 12h:.....	36
4.2.11 Hidrólisis de la (PCI) al 6% de HCl por 12h:.....	37
4.2.12 Hidrólisis de la (PCI) al 8% de HCl por 12h:.....	37
4.3 Determinación de azúcares reductores de la PSI hidrolizada con HCl:	41
4.3.1 Hidrólisis de la (PSI) al 2% de HCl por 4h:	41
4.3.2 Hidrólisis de la (PSI) al 4% de HCl por 4h:	41
4.3.3 Hidrólisis de la (PSI) al 6% de HCl por 4h:	42
4.3.4 Hidrólisis de la (PSI) al 8% de HCl por 4h:	42
4.3.5 Hidrólisis de la (PSI) al 2% de HCl por 8h:	43
4.3.6 Hidrólisis de la (PSI) al 4% de HCl por 8h:	44
4.3.7 Hidrólisis de la (PSI) al 6% de HCl por 8h:	44
4.3.8 Hidrólisis de la (PSI) al 8% de HCl por 8h:	45
4.3.9 Hidrólisis de la (PSI) al 2% de HCl por 12h:	46
4.3.10 Hidrólisis de la (PSI) al 4% de HCl por 12h:	47
4.3.11 Hidrólisis de la (PSI) al 6% de HCl por 12h:	47
4.3.12 Hidrólisis de la (PSI) al 8% de HCl por 12h:	48
4.4 Determinación de azúcares reductores de la PCI hidrolizada con H ₂ SO ₄ :.....	55
4.4.1 Hidrólisis de la (PCI) al 2% de H ₂ SO ₄ por 4h:.....	55
4.4.2 Hidrólisis de la (PCI) al 4% de H ₂ SO ₄ por 4h:.....	56
4.4.3 Hidrólisis de la (PCI) al 6% de H ₂ SO ₄ por 4h:.....	56
4.4.4 Hidrólisis de la (PCI) al 8% de H ₂ SO ₄ por 4h:.....	57
4.4.5 Hidrólisis de la (PCI) al 2% de H ₂ SO ₄ por 8h:.....	58
4.4.6 Hidrólisis de la (PCI) al 4% de H ₂ SO ₄ por 8h:.....	59
4.4.7 Hidrólisis de la (PCI) al 6% de H ₂ SO ₄ por 8h:.....	59
4.4.8 Hidrólisis de la (PCI) al 8% de H ₂ SO ₄ por 8h:.....	60
4.4.9 Hidrólisis de la (PCI) al 2% de H ₂ SO ₄ por 12h:.....	62
4.4.10 Hidrólisis de la (PCI) al 4% de H ₂ SO ₄ por 12h:.....	62

4.4.11 Hidrólisis de la (PCI) al 6% de H ₂ SO ₄ por 12h:.....	63
4.4.12 Hidrólisis de la (PCI) al 8% de H ₂ SO ₄ por 12h:.....	63
4.5 Determinación de azúcares reductores de la PSI hidrolizada con H ₂ SO ₄ :	67
4.5.1 Hidrólisis de la (PSI) al 2% de H ₂ SO ₄ por 4h:	67
4.5.2Hidrólisis de la (PSI) al 4% de H ₂ SO ₄ por 4h	67
4.5.3Hidrólisis de la (PSI) al 6% de H ₂ SO ₄ por 4h:	68
4.5.4Hidrólisis de la (PSI) al 8% de H ₂ SO ₄ por 4h:	68
4.5.5 Hidrólisis de la (PSI) al 2% de H ₂ SO ₄ por 8h:	70
4.5.6 Hidrólisis de la (PSI) al 4% de H ₂ SO ₄ por 8h:	70
4.5.7 Hidrólisis de la (PSI) al 6% de H ₂ SO ₄ por 8h:	71
4.5.8 Hidrólisis de la (PSI) al 8% de H ₂ SO ₄ por 8h:	71
4.5.9 Hidrólisis de la (PSI) al 2% de H ₂ SO ₄ por 12h:	73
4.5.10 Hidrólisis de la (PSI) al 4% de H ₂ SO ₄ por 12h:	73
4.5.11 Hidrólisis de la (PSI) al 6% de H ₂ SO ₄ por 12h:	74
4.5.12 Hidrólisis de la (PSI) al 8% de H ₂ SO ₄ por 12h:	74
4.6 Análisis Estadístico:	87
4.6.1 Análisis de varianza a 4 horas de hidrólisis:	87
4.6.2 Análisis de varianza a 8 horas de hidrólisis:	90
4.6.3 Análisis de varianza a 12 horas de hidrólisis:	92
CAPITULO V.....	94
5.0 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES:	94
5.1 Conclusiones:	94
5.2 Recomendaciones:.....	95
BIBLIOGRAFÍA.....	96

LISTA DE TABLAS

	pág
Tabla3.1. Alícuotas en mL para análisis	22
Tabla4.1 Porcentajes de azúcares reductores de la PCI obtenidos de las respectivas hidrólisis con HCl ₂	39
Tabla4.2 Porcentajes de azúcares reductores de la PSI obtenidos de las respectivas hidrólisis con HCl.	51
Tabla4.3 Porcentajes de azúcares reductores de las hidrólisis con PCI y PSI con HCl.	53
Tabla4.4 Porcentajes de azúcares reductores de la PCI obtenidos de las respectivas hidrólisis con H ₂ SO ₄	66
Tabla4.5 Porcentajes de azúcares reductores de la PSI obtenidos de las respectivas hidrólisis con H ₂ SO ₄	77
Tabla4.6 Porcentajes de azúcares reductores de las hidrólisis de la PCI y PSI con H ₂ SO ₄	79
Tabla4.7 Porcentajes de azúcar reductor de la PCI y PSI expuesta a HCl y H ₂ SO ₄	83
Tabla 4.8. Análisis de varianza a 4 horas de hidrólisis	88
Tabla 4.9. Análisis de varianza a 8 horas de hidrólisis	90
Tabla 4.10 Análisis de varianza a 12 horas de hidrólisis	92

LISTA DE FIGURAS

	pág
Figura2.1 Lígula membranosa en avena (<i>Avena sativa</i>).	7
Figura2.2 Aurículas en trigo (<i>Triticum aestivum</i>).	7
Figura2.3. Celulosa	13
Figura2.4.Estructura de la celulosa	14
Figura2.5. Hemicelulosa	14
Figura2.6. Lignina	15
Figura 3.1 Recolección y preparación de paja	23
Figura 3.2 Proceso de hidrólisis	24
Figura 3.3 Determinación de azúcares reductores.....	25
Figura 4.1.Hidrólisis de 4h de la PCI con HCl a diferentes concentraciones.....	32
Figura4.2.Hidrólisis de 8h de la PCI a diferentes concentraciones de HCl.	35
Figura4.3 Hidrólisis de 12h de la PCI a diferentes concentraciones de HCl	38
Figura 4.4. Hidrólisis de la PCI a diferentes concentraciones de ácidos y tiempos.	40
Figura 4.5. Hidrólisis de 4h de la PSI con HCl a diferentes concentraciones.	43
Figura 4.6.Hidrólisis de 8h de la PSI con HCl a diferentes concentraciones.	46
Figura 4.7. Hidrólisis de 12h de la PSI con HCl a diferentes concentraciones.	49
Figura 4.8. Hidrólisis de la PSI con HCl a diferentes concentraciones y tiempos.	51
Figura 4.9. Hidrólisis de 4h de la PCI y PSI con HCl a diferentes concentraciones.....	53
Figura 4.10. Hidrólisis de 8h de la PCI y PSI con HCl a diferentes concentraciones.	54
Figura 4.11. Hidrólisis de 12h de la PCI y PSI con HCl a diferentes concentraciones.....	55
Figura 4.12.Hidrólisis de 4h de la PCI con H ₂ SO ₄ a diferentes concentraciones.....	58
Figura 4.13. Hidrólisis de 8h de la PCI con H ₂ SO ₄ a diferentes concentraciones.....	61
Figura 4.14.Hidrólisis de 12h de la PCI con H ₂ SO ₄ a diferentes concentraciones.....	64
Figura 4.15. Hidrólisis de la PCI con H ₂ SO ₄ a diferentes concentraciones y tiempos	66
Figura 4.16. Hidrólisis de 4h de la PSI con H ₂ SO ₄ a diferentes concentraciones.	69
Figura4.17. Hidrólisis de 8h de la PSI con H ₂ SO ₄ a diferentes concentraciones	72
Figura4.18. Hidrólisis de 12h de la PSI con H ₂ SO ₄ a diferentes concentraciones	75
Figura 4.19. Hidrólisis de la PSI con H ₂ SO ₄ a diferentes concentraciones y tiempos	77
Figura4.20. Hidrólisis de 4h de la PCI y PSI con H ₂ SO ₄ a diferentes concentraciones.....	79
Figura 4.21.Hidrólisis de 8h de la PCI y PSI con H ₂ SO ₄ a diferentes concentraciones.	80
Figura4.22. Hidrólisis de 12h de la PCI y PSI con H ₂ SO ₄ a diferentes concentraciones.	81
Figura4.23. Hidrólisis de la PCI con HCl y H ₂ SO ₄ a diferentes concentraciones y tiempos.	83
Figura 4.24.Hidrólisis de la PSI con HCl y H ₂ SO ₄ a diferentes concentraciones y tiempos.....	84
Figura4.25 .Hidrólisis de 8h de la PCI con HCl y la PSI con H ₂ SO ₄ a diferentes concentraciones	86
Figura4.26. Hidrólisis de 12h de la PSI con HCl y la PCI con H ₂ SO ₄ a diferentes concentraciones	87
Figura 4.27. Análisis de factores hidrólisis de 4 horas.....	88
Figura4.28. Interacción de factores de la hidrólisis de 4 horas	89
Figura 4.29. Análisis de factores hidrólisis de 8 horas.....	90
Figura 4.30. Interacción de factores de la hidrólisis de 8 horas.	91
Figura 4.31. Análisis de factores hidrólisis de 8 horas.....	92
Figura 4.32. Interacción de factores de la hidrólisis de 12 horas.	93

ANEXOS

	pág
<u>ANEXOS</u>	9800
ANEXO I: Identificación Taxonómica de dos variedades de paja.....	980
ANEXO II	991
Fotografías sobre la recolección de las dos variedades de pajas Calamagrostis intermedia y Stipa ichu.....	991
ANEXO III.....	1002
Fotografías sobre la experimentación realizada en el Centro de Química laboratorio 1-2.	1002
ANEXO IV.....	1035
Tabla de datos de análisis de varianza a 4 horas de hidrólisis.	1035
ANEXO V.....	1046
Tabla de datos de análisis de varianza a 8 horas de hidrólisis.	1046
ANEXO VI.....	1057
Tabla de datos de análisis de varianza a 12 horas de hidrólisis.....	1057

ABREVIATURAS

AOAC:.....Asociation of Official Analytical Chemist

PCI:.....Paja Calamagrostis Intermadia

PSI:.....Paja Stipa Ichu

AR:.....Azúcar Reductor

RESUMEN DOCUMENTAL

Las pajas *Calamagrostis Intermedia* y *Stipa Ichu* ocupan la mayor parte de las zonas volcánicas del Cotopaxi y Chimborazo constituyendo un forraje dominante, son componentes esenciales del 70% de los páramos ecuatorianos.

Este material lignocelulósico por su contenido de celulosa y al ser renovable, se puede utilizar para la obtención de azúcares fermentables, previa hidrólisis ácida, mediante el proceso denominado sacarificación, siendo el objetivo de ésta tesis.

El proceso de hidrólisis ácida se aplicó a las muestras *Calamagrostis intermedis* y *Stipa ichu* con dos tipos de ácidos HCl y H₂SO₄ a concentraciones de 2%, 4%, 6% y 8%, a distintos tiempos de reflujo de 4 h, 8h y 12 horas. Se analizó cada una de las muestras obtenidas el porcentaje de azúcar reductor mediante la técnica de Fehling.

Se determinó que todos los factores de tiempo, concentración de ácidos, tipos de ácidos y variedades de paja influyen en cada proceso de reflujo lo que afecta para obtener mayor o menor porcentaje de azúcar reductor.

El procesos con mejor rendimiento fue la hidrólisis realizada para las dos variedades de paja con H₂SO₄ al 8% del ácido sometida a 12 horas de reflujo, obteniendo para la paja *Calamagrostis intermedia* (PCI) un porcentaje de 25,3% y para la paja *Stipa ichu* de 24,4% de azúcares reductores.

Palabras Clave:

AZÚCARES REDUCTORES, *Calamagrostis Intermedia*, CELULOSA, HIDRÓLISIS ÁCIDA, MATERIAL LIGNOCELULÓSICO, PAJA, *Stipa Ichu*.

ABSTRACT

Straws *Calamagrostis intermedia* and *Stipa ichu* occupy most volcanic areas constituting Cotopaxi and Chimborazo dominant forage, are essential components of 70% of the Ecuadorian Andes.

The lignocellulosic material for its content of cellulose and being renewable, may be used for the production of fermentable sugars, after acid hydrolysis, through a process called saccharification, with the objective of this thesis.

The acid hydrolysis process was applied to samples *Calamagrostis intermedia* and *Stipa ichu* with two types of HCl and H₂SO₄ acid at concentrations of 2%, 4%, 6% and 8%, at various times reflux 4 h, 8h, 12 hours. Was determined for each of the samples obtained the percentage of reducing sugar by Fehling technique.

It was determined that all the factors of time, acid concentration, acid types and varieties of straw influence each reflow process affecting for higher or lower percentage of reducing sugar.

The best performing processes hydrolysis was performed for the two varieties of straw with H₂SO₄ at 8% acid and 12 hours under reflux for straw getting *Calamagrostis intermedia* (PCI) a percentage of 25,3% and straw *Stipa ichu* of 24,4% reducing sugars.

KEYWORDS: REDUCING SUGARS, *Calamagrostis Intermedia*, CELLULOSE, ACID HYDROLYSIS, LIGNOCELLULOSIC MATERIAL, STRAW, *Stipa Ichu*.

CAPITULO I

1. PROBLEMA

1.1 Planteamiento del Problema:

Los páramos ecuatorianos cubre alrededor de 1, 250,000 ha, es decir aproximadamente un 6% del territorio nacional, donde los pajonales representan un 60% de la extensión total. En los páramos del Chimborazo y Cotopaxi el pajonal (*Stipa ichu* y *Calamagrostis intermedia*) respectivamente, cubre el 90% de la superficie constituyendo un forraje dominante, en donde su uso más importante se encuentra destinado para el pastoreo ligero de camélidos y ganado foráneo, también son usadas directamente y localmente para la construcción y artesanías (cestas). (Medina, 1999)

El uso incontrolado de los páramos ocasiona un permanente deterioro de los recursos naturales y afecta gravemente al ecosistema, como el sobre pastoreo, es decir el consumo excesivo del forraje (pajonal y pastos naturales) que sirve de alimento para el ganado bovino, equino y ovino, ligado con la quema de pajonales siendo la práctica más antigua que utiliza el hombre para manipular la vegetación de los terrenos de pastoreo como forma de renovar las pasturas , lo que conduce a la degradación de la vegetación, mayor erosión de los suelos debido a que el carbono se oxida, forma CO₂ y va a la atmosfera, causando el deterioro de su fertilidad y estructura, reduciendo las especies de forrajes y aumentando las malezas desabridas. (Ramón, 2008)

La capacidad del páramo como almacenador y distribuidor del agua proveniente de las lluvias, los deshielos y la condensación de la neblina se basa en una estructura especial de sus suelos, salvaguardada por la vegetación que crece sobre ellos, y que los hace funcionar como una esponja que recoge y distribuye el agua de manera constante y limpia, incluso en épocas de sequía. Al igual que en el caso anterior, se trata de una característica muy frágil que se perturba profundamente por prácticamente cualquier intervención en el páramo. (Poulenard, 2002)

En otras palabras, con una buena protección del páramo, evitando la quema de la vegetación natural y la erosión del suelo, se está previniendo la emisión de carbono en forma de CO₂ a la atmósfera y contribuyendo a paliar el efecto invernadero. Por esta razón se propone una manera de aprovechar el material lignocelulósico (paja) del páramo obteniendo azúcares reductores mediante la ruptura de la celulosa siendo una alternativa de aplicación para posteriormente fermentar y llegar alcohol etílico.

1.2 Formulaci3n del problema:

¿Qu3 porcentaje de azúcares reductores se puede obtener de la hidrólisis ácida de la paja *Calamagrostis intermedia* y *Stipa ichu*?

1.3 Objetivos:

1.3.1 Objetivo General:

- Obtener azúcares reductores por hidrólisis ácida a partir de dos variedades de paja.

1.3.2 Objetivos Específicos:

- Recolectar las dos variedades de pajas (*Calamagrostis intermedia* y *Stipa ichu*).
- Realizar la hidrólisis ácida con las dos variedades de pajas *Calamagrostis intermedia* y *Stipa ichu* utilizando concentraciones de 2, 4, 6 y 8% de HCl y H₂SO₄ a distintos tiempos de 4, 8 y 12 horas.
- Determinar el porcentaje de azúcares reductores mediante la técnica de fehling obtenidos después de un proceso de hidrólisis ácida de las pajas (*Calamagrostis intermedia* y *Stipa ichu*), sometidas a diferentes variables de tiempo y concentraci3n.
- Evaluar a que tiempos y concentraciones de ácidos (H₂SO₄ y HCl) se obtienen un proceso óptimo.
- Comparar cual de las dos pajas permite obtener mayor porcentaje de azúcares.

1.4 Importancia y Justificaci3n:

En los últimos años el interés hacia la utilizaci3n química y energética de los materiales lignocelulósicos (conjunto de materiales de origen forestal, agrícola o urbano) ha ido en constante aumento debido a que la celulosa y la hemicelulosa son carbohidratos que pueden ser transformados en azúcares fermentables. (Medve, 1998)

Gracias a su origen renovable, a la biodegradabilidad de sus derivados y sus posibilidades de reciclaje, son una fuente idónea de material polimérico, es decir casi cualquier planta fibrosa puede ser utilizada como fibras procedentes de plantas anuales: lino, yute, abacá; residuos agrícolas: paja de trigo, maíz, paja de arroz, bagazo de caña, sisal y hierbas silvestres: pastos, bambú, hierba elefante, etc. (Greef, 2008)

Así, por ejemplo, en el caso del trigo, la parte que interesaría no sería sólo el grano, sino también la paja, debido a su alto contenido celulósico ya que se puede obtener azúcares como la pentosa y la glucosa, para su posterior fermentaci3n y producci3n de etanol. Es decir de una tonelada de biomasa a partir de paja de trigo se obtienen 80-85 galones, es decir entre 304-323 litros de etanol aproximadamente, mientras que de una tonelada de grano se obtienen 360 litros,

explica **Gerson Santos**, responsable de la investigación y desarrollo de **Abengoa Bioenergía**, que el grano de trigo contiene más porcentaje de aceite que la paja. Pero de una cosecha se lograrán más litros de la segunda que de la primera, ya que la mayor parte de la planta es paja y no grano. (Tobalino, 2007)

Por esta razón se toma en cuenta el uso de estos cultivos energéticos como las pajas ***Calamagrostis intermedia*** y ***Stipa ichu*** (ver **Anexo 1**) clasificados en el grupo de **segunda generación**, ya que es todo aquello que procede de la madera, hierbas y residuos agrícolas, siendo una fuente idónea de celulosa para la producción de azúcares. En el Ecuador este tipo de materia prima es destinado directamente a la alimentación animal y no es vista como una potencial fuente de desarrollo y producción de nuevas alternativas energéticas.

CAPITULO II

2. MARCO TEORICO

2.1 Antecedentes:

La diversidad de los páramos del Ecuador está caracterizada por la riqueza singular que tienen en términos de flora, fauna y paisajes, aún no se conoce el número exacto de especies de plantas que viven en los páramos del país, “pero se sugiere que son alrededor de 1,500.” (Yáñez, 1993).

Las familias parameras con mayor número de especies endémicas para el Ecuador son *Orchidaceae* y *Asteraceae*, *Gentianaceae*, *Campanulaceae*, *Poaceas* o gramíneas, *Brassicaceae*, las cuales han tenido que luchar contra una serie de condiciones extremas que han configurado una vegetación bastante típica aunque con ciertas afinidades, por ejemplo y de manera superficialmente sorprendente, con las zonas desérticas. Se pueden clasificar las plantas en formas de vida que responden a sus adaptaciones más notables. (Hedberg & Hedberg 1979)

Las especies más ampliamente distribuidas en los páramos del pajonal son las pajas *Calamagrostis*, *Festuca* y *Stipa* debido a su fácil adaptabilidad a lugares intervenidos, matizadas por manchas boscosas en sitios protegidos de arbustos de géneros como Valeriana, Chuquiraga, *Arcytophyllum*, *Pernettya* y *Brachyotum*, de hecho y con el paso del tiempo, estas especies pioneras van siendo reemplazadas por otras o simplemente disminuyen su cobertura sin desaparecer por completo.

Los primeros estudios de las especies *Calamagrostis intermedia* y *Stipa ichu* no datan desde que fechas se realizaron, pero existen varias investigaciones relacionadas con la identificación de pasturas, pajonales, páramos, etc, en las cuales se mencionan estas especies, por ejemplo “Ramírez realiza su estudios sobre la identificación de las pasturas nativas del Ecuador donde destaca que en las áreas más bajas de la región de los páramos se encuentran los géneros *Calamagrostis intermedia*, *Stipa ichu*, entre otras, donde son utilizadas para el pastoreo.” (Ramírez, 1996)

Estudios sobre la biodiversidad de los páramos en el Ecuador por **Patricio Mena** en el año **2000** en donde analiza y discute sobre la flora local, la riqueza florística, las influencias biogeográficas de la flora de los páramos, también menciona ciertas características de las especies *Calamagrostis* y *Stipa*; existe información sobre estas variedades de pajas, pero no enfocadas directamente en ellas sino en forma general.

Existen publicaciones científicas sobre hidrólisis aplicadas a materiales celulósicos entre estos los cultivos agrícolas de origen herbáceo como la paja de cereales o leñosos, para la obtención de biocombustibles utilizados como cultivos energéticos, por ejemplo se aplica un diseño de procesos para la hidrólisis de material lignocelulósico realizado por **García en el año de 1999** mediante procesos físicos como la explosión de vapor combinado con ácidos sometiendo al agua a condiciones súper críticas, para obtención de etanol, no hay artículos específicos donde se haya aplicado la utilización de las pajas de páramo o en especial estas especies investigadas.

2.2 Fundamento Teórico:

2.2.1 Familia:

Las *gramíneas* o *poáceas* (*Poaceae Barnhart*) son una familia de plantas herbáceas, perenne o anuales, perteneciente al orden *Poales* de las monocotiledóneas (Liliopsida). Crecen por todas las latitudes, son plantas perfectamente adaptadas a climas áridos, pero tampoco faltan especies mesófilas y hasta acuáticas, en algunas áreas tienden a dominar, llegando a ser una familia de notable importancia en el revestimiento vegetal de la Tierra.

Tienen tallos cilíndricos a elípticos en su sección transversal, articulados, llamados ordinariamente cañas, en general con nudos macizos y entrenudos huecos (pero pueden ser totalmente macizos como en el caso del maíz y algunos bambúes). Los nudos son algo más gruesos que los entrenudos y en ellos nacen las hojas y las yemas. Un poco más arriba del nudo existe un meristema intercalar en forma de anillo que determina el alargamiento del tallo. En algunos géneros existen de 2 a 6 nudos muy próximos entre sí (los cuales se denominan *nudos compuestos*), cada uno de los cuales lleva su correspondiente hoja. En general los entrenudos basales son más cortos que los superiores; cuando hay varios nudos basales las hojas parecen arrosetadas, los principales tipos de tallos en las gramíneas son los siguientes:

- **Tallos aéreos:**
 - **Tallos erectos o ascendentes**, generalmente con entrenudos cortos en la base y gradualmente más largos hacia el ápice. Pueden ser simples o ramificados.
 - **Tallos rastreros**, que crecen recostados sobre el suelo, arraigando en los nudos; frecuentemente presentan nudos compuestos, como en *Stenotaphrum* y *Cynodon*. Cuando los tallos rastreros originan nuevas plantas en cada nudo se denominan estolones.
 - **Tallos flotantes**, los cuales flotan en el agua gracias a los entrenudos huecos o a la presencia de aerénquima.

- **Tallos subterráneos:**

- **Rizomas**, existen dos tipos de rizomas en las gramíneas, un primer tipo de rizomas cortos y encorvados, de crecimiento definido, que generan nuevas plantas junto a la mata original contribuyendo a aumentar su diámetro, como por ejemplo en *Arundo donax* y *Spartina densiflora*, el otro tipo de rizoma es largo, de crecimiento indefinido que propaga la planta a cierta distancia de la mata original. Ejemplos de este segundo tipo son *Sorghum halepense* y *Panicum racemosum*.
- **Pseudobulbos**, son engrosamientos de los entrenudos basales envueltos por sus vainas foliares. Son poco frecuentes en las gramíneas, algunos ejemplos son *Amphibromus scabrivalvis* y *Phalaris tuberosa*.

Poseen hojas de disposición alterna, compuestas típicamente de vaina, lígula y limbo. La vaina rodea al tallo, sus márgenes se superponen pero no se fusionan entre sí (sólo ocasionalmente pueden ser encontradas formando un tubo). La lígula es un pequeño apéndice membranoso, situado en la zona de unión del limbo con la vaina, en la parte adaxial. El limbo (o lámina) es simple, usualmente lineal, con nerviación paralela. Puede ser aplanado o a veces enrollado en un tubo, puede ser continuo con la vaina o poseer pecíolo. Además de esta descripción, es necesario abordar la variabilidad que se puede hallar para cada uno de éstos órganos, en la figura 2.1 y 2.2 se observa algunas de las partes de las plantas pertenecientes a la familia *Poaceae*.



Figura2.1 Lígula membranosa en avena (*Avena sativa*).

Por: Rasbak, 2006, Avena sativa lígula.



Figura2.2 Aurículas en trigo (*Triticum aestivum*).

Por: Rasbak, 2005, Triticum aestivum aurículas.

- **Perfil:** es la primera hoja de cada innovación, generalmente está reducida a una vaina membranosa, con 2 carenas conspicuas, sin lígula ni lámina, que protege a la innovación.
- **Vaina:** la vaina nace en un nudo y envuelve a la caña, pudiendo ser más corta o más larga que el entrenudo, frecuentemente la vaina esta hendida hasta su base, si bien sus bordes se superponen enrollándose alrededor de la caña, pero en muchas especies está parcial o totalmente soldada por sus bordes. Las nervaduras de la vaina son numerosas y uniformes.
- **Lígula:** generalmente membranosa, pero en algunas tribus, por ejemplo en las *Eragrostídeas*, *Arundinóideas* y *Panicóideas*, está formada por una banda de pelos o ciliass, o bien no existe.

- **Pseudopeciolo:** es la contracción entre la lámina y la vaina que semeja un peciolo; frecuentemente este pseudopeciolo está articulado con la lámina y es persistente.
- **Lámina:** es lineal o lanceolada, entera en el margen y con nervaduras paralelas. En los géneros tropicales aparecen láminas oblongas hasta anchamente elípticas, como en *Pharus* y *Olyra*. La lámina de *Neurolepis* (Bambusoideae) puede tener hasta 4 metros de largo; cuando las láminas son anchas y planas, como en *Zea* y en *Sorghum*, hay una nervadura central conspicua; en cambio en las hojas lineales, estrechas, las nervaduras son más o menos iguales entre sí. Esta característica se aprecia perfectamente en la primera prefoliación y permite identificar a ciertas especies.
- **Epidermis:** los caracteres epidérmicos de la hoja y de las brácteas de las gramíneas sirven para diferenciar determinadas subfamilias o tribus. En general, la disposición de las células epidérmicas es diferente en las caras superior e inferior de la lámina. También es distinta la disposición sobre los haces vasculares (se llaman *zonas costales*) y entre dichos haces (*zonas intercostales*).
- **Macollos** o macollas son la unidad estructural de la mayoría de las especies de gramíneas, se forman a partir de las yemas axilares o secundarias del meristema basal del eje principal. Cada uno de estos brotes secundarios o macollos inician su aparición cuando las plantas presentan entre dos y tres hojas. Cada uno de ellos, luego de producir sus primeras hojas, genera su propio sistema radicular. La suma o adición de macollos es lo que conforma la estructura y la forma de una planta de gramínea.
- **Pedicelo:** es el pedúnculo que sostiene a la espiguilla que puede ser más o menos largo o estar completamente ausente, en ese caso las espiguillas son sésiles.
- **Raquilla** o eje de la inflorescencia, suele ser ondulada llevando en cada ángulo un antecio, la raquilla puede estar articulada con el pedicelo por debajo de las glumas (que entonces caen con la espiguilla) o por encima de las glumas (que, entonces, son persistentes). La raquilla puede ser tenaz o fragmentarse en artejos a la madurez de los frutos.
- **Glumas:** Típicamente son dos, alternas, herbáceas, membranosas o papiráceas, ovadas o lanceoladas, contraídas lateralmente y más o menos carenadas o redondeadas, casi planas por compresión dorsiventral de la espiguilla. Pueden llevar una o varias nervaduras y ser míticas, mucronadas o aristadas en el ápice.
- **Antecios:** los antecios (*casilla floral*, en griego) pueden ser desde uno hasta varios. Están formados por dos brácteas, las glumelas, que encierran a la flor. En algunos géneros los antecios se desprenden con un fragmento de la raquilla, frecuentemente cubierto de pelos que forma el *antopodio* o *callus*.

- **Lemma:** es la bráctea en cuya axila se desarrolla la flor; la lemma es ovada o lanceolada; comprimida lateral o dorsalmente, con una o varias nervaduras, aguda u obtusa, mútica o con una o más aristas apicales o dorsales.
- **Flor:** es desnuda (carece de cáliz y corola), pero está acompañada generalmente por dos pequeñas piezas escamosas traslúcidas, denominadas lodículas, que constituyen un resto de perianto. La flor puede ser hermafrodita o unisexual.
- **Androceo:** el androceo en las gramíneas es cíclico y en general trímero (es decir, está compuesto por tres estambres, o un múltiplo de tres)
- **Gineceo.** El gineceo está formado por un ovario globoso, piriforme o fusiforme, generalmente bicarpelar, unilocular, con dos estilos cortos y estigmas plumosos.
- **Fruto** o grano de las gramíneas es un cariopse, con una semilla cuya testa está soldada con el pericarpio formando una envoltura muy delgada. Esta envoltura encierra al embrión y al albumen o endosperma. (Werker 1997)

Las **Poaceas** son una familia que posee más de 670 géneros y cerca de 10.000 especies descritas, tienen una enorme importancia en la economía, debido a que la mayor parte de la dieta de los seres humanos proviene de las gramíneas, tanto en forma directa (granos de cereales y sus derivados, como harinas y aceites) o indirecta (carne, leche y huevos que provienen del ganado y las aves de corral que se alimentan de pastos o granos).

El cultivo de cereales es la base del desarrollo de las primeras sociedades civilizadas tanto en el Viejo como en el Nuevo Mundo. Entre los cereales más importantes está el trigo, con las 2 especies fundamentales, el grano duro (*Triticum durum*) y el grano blando (*Triticum aestivum*), el álaga (*Triticum turgidum*), la cebada (*Hordeum vulgare*), la avena (*Avena sativa*), el centeno (*Secale cereale*), el arroz (*Oryza sativa*), el maíz (*Zea mays*), ampliamente cultivados en las regiones templadas.

En las regiones tropicales de África y de Asia oriental; además del arroz, está bastante difundido el mijo (*Panicum miliaceum*, *Setaria italica*, *Sorghum bicolor*, *Pennisetum spicatum*). Muchísimas gramíneas se utilizan también como forraje para los animales, sobre todo algunas especies de los géneros *Lolium*, *Poa*, *Festuca*, *Calamagrostis*, *Stipa* etc.

En la región mediterránea las **Poaceae** autóctonas aparecen localizadas en los ambientes abiertos, como praderas esteparias (*Ampelodesmos mauritanicus*), pastos mesófilos (*Cynosurus cristatus*), prados efímeros (*Trachynia distachya*), y además ocupando todos los tipos de ambientes, como bosques (*Brachypodium sylvaticum*), lugares húmedos (*Paspalum*

paspaloides), dunas arenosas (*Ammophila arenaria*), campos cultivados (*Setaria verticillata*), ambientes ruderales (*Oryzopsis miliacea*), etc.

Ha conquistado la mayoría de los nichos ecológicos del planeta, desde las zonas desérticas hasta los ecosistemas de agua salada, y desde las zonas deprimidas y anegadizas hasta los sistemas montañosos más altos. Esta incomparable capacidad de adaptación está sustentada en una enorme diversidad morfológica, fisiológica y reproductiva por lo que se convierten a las gramíneas en una fascinante familia, no solo por su importancia económica, sino también por su relevancia biológica. (Connor, 1979)

2.2.2 Género:

Las **Poaceae** comprenden aproximadamente unos 651 géneros, (Clayton & Renvoize, 1986) ocupando el tercer lugar en cuanto al número de géneros, después de las *Asteraceae* y las *Orchidaceae*.

A continuación en la siguiente lista se menciona algunos géneros pertenecientes a la familia *Poaceae*.

Géneros de la Familia Poaceae

1. *Aegilops*
2. *Agrostis*
3. *Aira*
4. *Alopecurus*
5. *Ammophila*
6. *Anthoxanthum*
7. *Arrhenatherum*
8. *Arundo*
9. *Avena*
10. *Bellardiochloa*
11. *Brachypodium*
12. *Briza*
13. *Bromus*
14. *Calamagrostis*
15. *Catabrosa*
16. *Cortaderia*
17. *Cynosurus*
18. *Dactylis*
19. *Desmazeria*
20. *Elymus*
21. *Glyceria*
22. *Helictotrichon*
23. *Holcus*
24. *Hordeum*
25. *Koeleria*
26. *Lagurus*
27. *Lolium*
28. *Molinia*
29. *Nardus*
30. *Paspalum*

31. *Phleum*
32. *Phragmites*
33. *Poa*
34. *Spartina*
35. *Stenotaphrum*
36. *Stipa*

Adaptado: Asturnatura. (2004-2012). Clasificación Poaceae.

2.2.3 Especies:

“La familia *Poaceae* posee alrededor de 10,000 especies” (Campbell, 1985), ocupando el quinto lugar en cuanto al número de especies, después de las *Asteraceae*, las *Orchidaceae*, las *Fabaceae* y las *Rubiaceae*, y el primer lugar desde el punto de vista económico, pues de algunas de sus especies provienen los cereales y es la fuente de la mayor parte del azúcar mundial, del forraje de herbívoros domésticos y salvajes, de celulosa para papel, así como también de los bambúes y las cañas para la construcción,

En esta investigación nos vamos a enfocar directamente en las especies *Calamagrostis intermedia*(*J. Presl*) *Steud* y *Stipa ichu* *Ruiz & Pav* (**Anexo 1**) provenientes de los páramos herbáceos (pajonales), de las zonas volcánicas del Cotopaxi y Chimborazo, donde ocupan la mayor parte. Estos tipos de pastos generalmente se entremezclan con otros tipos de hierbas y pequeños arbustos. (Gerrit, 1994)

El nombre de la especie *Calamagrostis intermedia* (*J. Presl*) *Steud* (**ver Anexo2**), viene del griego *kalamos*, que significa calamo y *agrostis*, que quiere decir especie de hierba, denominada también como *paja blanca*, crece desde los 2,800 hasta los 3,500 m.s.n.m encontrándose en páramos y subpáramos del Cotopaxi. (Gerrit, 1994)

Son hierbas de hasta 2 metros de altura, con flores reducidas no muy visibles, tienen hojas pálidas glabras y crecen en zonas de bajas temperaturas. Las especies de *paja blanca* prefieren suelos húmedos. Crecen bien en suelos ácidos (se evidencia por la abundancia de helechos). Estas plantas predominan en el páramo en formaciones vegetales llamadas pajonales; también se asocia con frailejones y otras pajas.

La especie *Stipa ichu* *Ruiz & Pav* (**ver Anexo 2**), mejor conocida como *paja brava* o *paja ichu*, es un pasto del antiplano andino, crecen en lugares áridos, arenosos y pedregosos de zonas altas y frías como el páramo del Chimborazo, se encuentra a alturas de 4,250 m.s.n.m. debido a que a esta altura los páramos no tienen vegetación arbórea solo pequeños arbustos en sitios

protegidos, sus hojas son lineales, angulosas, delgadas, crecen en forma de manojo (Gerrit,1994).

Las pajas *Calamagrostis intermedia* y *Stipa ichu* son componentes esenciales del 70% de los páramos ecuatorianos, utilizadas para construcción, alimento directo de ganado vacuno y lanar, y en ciertas zonas del país, se usan grandes cantidades de paja de páramo para cobertura y el mejoramiento del suelo en cultivos, particularmente de frutas, especialmente los de la sierra central (provincias de Imbabura, Pichincha, Cotopaxi, Tungurahua, Chimborazo, Bolívar y Cañar) (Acosta, 1980).

En las siguientes listas se describe la identificación taxonómica de las especies *Calamagrostis intermedia* y *Stipa ichu*.

- **Identificación taxonómica *Calamagrostis intermedia***

Reino: Plantae
División: Magnoliophyta
Clase: Equisetosida
Subclase: Lilianae
Orden: Pequeña Poales
Familia: POACEAE
Especie: *Calamagrostis intermedia*
Nombre común: Pasto
Adaptado: (Gerrit, 1994)

- **Identificación taxonómica *Stipa ichu***

Reino: Plantae
División: Magnoliophyta
Clase: Liliopsida
Subclase: Commelinidae
Orden: Poales
Familia: POACEAE
Subfamilia: Stipoideae
Género: *Stipa ichu*
Especie: *S. ichu*
Nombre común: Pasto
Adaptado: (Gerrit, 1994)

Más allá de las potencialidades que los páramos ecuatorianos puedan tener en los ámbitos señalados, también pueden generar otros beneficios para la sociedad, mediante el aprovechamiento de las pajas, para la producción de azúcar, basándose principalmente en la hidrólisis cuyo objetivo es la conversión de la celulosa en glucosa.

2.2.4 Celulosa:

La hidrólisis se puede realizar catalizada por ácidos, bases y calor o con la ayuda de microorganismos y enzimas, posteriormente la hidrólisis de la celulosa o del almidón se llama sacarificación por convertir los azúcares oligoméricos en azúcares monoméricos en general glucosa y xilosa. Los procesos ácidos son de los más empleados y tiene la ventaja de que separan los azúcares monoméricos de las hemicelulosas y exponen a las fibras celulósicas a la acción hidrolítica, tiene la desventaja de generar compuestos inhibidores, por lo que se hace necesario un paso de detoxificación.

Las complejas estructuras de la celulosa (celulosa, hemicelulosa y lignina) son divididas para conseguir una solución azucarada, y continuar con el proceso de fermentación. La fracción mayoritaria de esta biomasa es la celulosa cristalina que es un polímero grande, aparentemente uniforme y no ramificado, compuesta de cadenas largas de moléculas de D-glucosa unidas por enlaces beta(1-4) que se presentan en forma de silla. A continuación se presenta en la figura 2.4 y 2.5 la estructura de la celulosa.

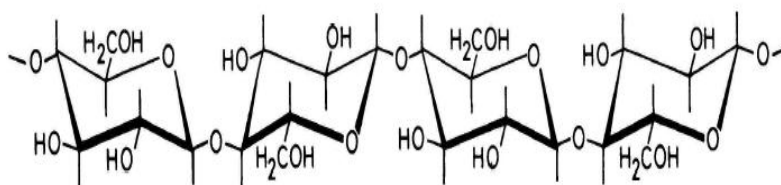


Figura2.3. Celulosa Por: Klemm, 2005, Cellulose

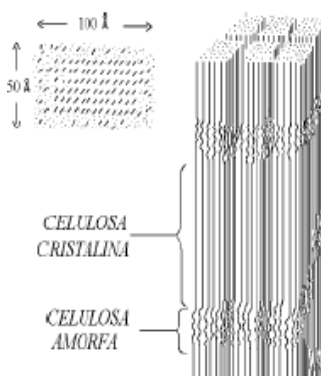


Figura2.4 Estructura de la celulosa Por: Klemm, 2005, Cellulose

Se ha calculado que el número de unidades de glucosa en una molécula de celulosa varía de 3000 a 10,000, la celulosa está ampliamente distribuida en las plantas, en las que forma la armadura de las paredes celulares. Las moléculas de celulosa no se encuentran libres sino que están dispuestas en haces paralelos de aproximadamente unas 2000. Estos haces son los microfibrillas de las paredes celulares, dentro de las microfibrillas las moléculas no se disponen de un modo regular: hay regiones cristalinas (micelas) y áreas amorfas menos ordenadas que a su vez, se agrupan en estructuras superiores de gran cristalinidad, lo que dificulta su hidrólisis y conversión a azúcares fermentables. Sin embargo, una vez que se producen los azúcares simples, pueden fermentarse sin dificultad (Davies, 1997).

La segunda fracción es la hemicelulosa, son polisacáridos de las paredes celulares no clasificados como sustancias pécticas o celulosa, formada por polímeros de azúcares de cinco átomos de carbono (principalmente xilanos, mananos, glucomananos, galactanos y arabanos). Esta fracción es fácilmente hidrolizable ya que no presenta estructura cristalina; sin embargo, la xilosa es un azúcar difícil de fermentar a etanol (Davies, 1997). A continuación se presenta en la figura 2.6 la estructura de la hemicelulosa.

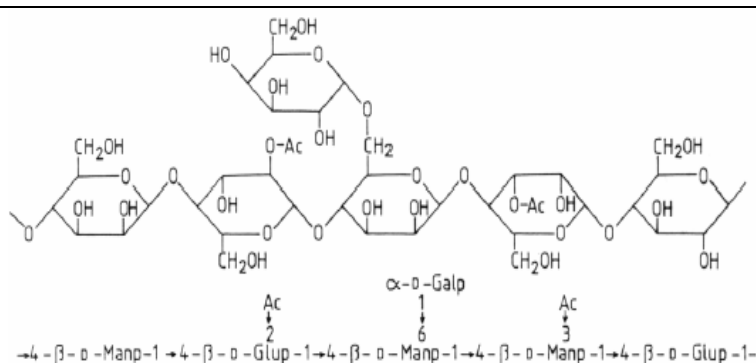


Figura2.5. Hemicelulosa Por: Klem 2005, hemicelulosa

La última fracción es lignina, aparece entre las microfibrillas de ciertas células y resiste a la compresión. Es un polímero tridimensional que consta predominantemente de unidades de fenilpropano sustituidas por enlaces éster y C-C. Se desconoce la estructura del polímero, por lo que cualquier fórmula a base de una unidad simple repetida no es válida. Se muestra a continuación una fórmula que ilustra los tipos de enlaces; esta fórmula no debe tomarse en sentido literal (Davies, 1997). En la figura 2.7 se presenta la estructura de la lignina.

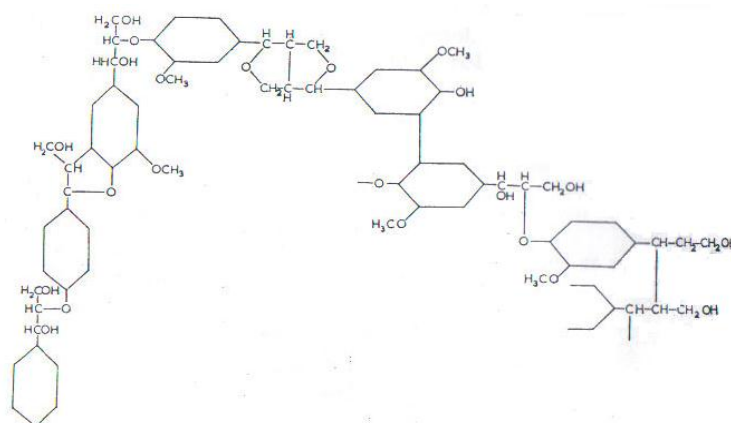


Figura 2.6. Lignina Por: Davies, 1997 lignina

2.2.5 Azúcares Reductores:

Los monosacáridos y la mayoría de los disacáridos poseen poder reductor esto se debe al grupo carbonilo que tienen en su molécula. Este carácter reductor puede ponerse de manifiesto por medio de una reacción redox.

Los monosacáridos reaccionan de acuerdo a los grupos hidroxilo y carbonilo que poseen. Los disacáridos y los polisacáridos se pueden hidrolizar para producir monosacáridos.

Los azúcares o carbohidratos pueden ser monosacáridos, disacáridos, trisacáridos, oligosacáridos y polisacáridos, pero aquellos que dan resultados positivos con las soluciones de Tollens, Benedict ó Fehling se conocen como azúcares reductores, y todos los carbohidratos que contienen un grupo hemiacetal o hemicetal dan pruebas positivas ya que son oxidados por numerosos agentes oxidantes como (Cu^{2+} , Bi^{2+} , Ag^+ , $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ y compuestos aromáticos nitrados), tras el ataque inicial, la oxidación e isomerización puede continuar a lo largo de la cadena de carbonos de una manera no estequiométrica, dando numerosos productos de bajo peso molecular.

Los carbohidratos que solo contienen grupos acetal o cetal no dan pruebas positivas con estas soluciones y se llaman azúcares no reductores por ejemplo la sacarosa es un disacárido que tiene sólo enlaces glucósidos, no posee carbonos anoméricos libres por lo que carece de poder reductor siendo resistente a la oxidación.

2.2.6 Fundamento metodológico:

El diseño experimental se encuentra basado a partir de la hidrólisis de la celulosa de las dos variedades de paja a diferentes concentraciones de ácidos y distintos tiempos de exposición, determinando la concentración de azúcar reductor mediante una técnica validada como es la de la AOAC 974.06.

CAPITULO III

3. METODOLOGÍA

3.1 Tema de la investigación:

Obtención de Azúcares Reductores por Hidrólisis Ácida a partir de dos variedades de paja (*Calamagrostis intermedia* y *Stipa ichu*)”.

3.2 Tipo de investigación:

Es una investigación de tipo experimental ya que analiza el efecto producido por la acción o manipulación de una o más variables independientes sobre una o varias dependientes, la realización de la parte metodológica será realizada en la Universidad Central del Ecuador, Centro de Química, laboratorio 1-2.

3.3 Población y muestra:

Para la realización del muestreo de las pajas *Calamagrostis intermedia* y *Stipa ichu* se basa en la metodología propuesta en los libros “*Análisis de suelos, plantas y aguas para riego*” y “*Prácticas de atmósfera, suelo y agua*”.

3.3.1 Muestreo de la paja *Calamagrostis intermedia* y *Stipa ichu*:

El muestreo superficial se realiza en parcelas o unidades de terreno uniformes, se delimita una zona de cultivo de 100 m², en la que se procede a tomar las muestras en los cuatro extremos y en el centro del terreno.

Se realiza todos los cortes de las muestras a unos 20cm del suelo y se procede a guardar las muestras en bolsas de plástico cerradas.

3.3.2 Población:

Pastizales de los páramos del Chimborazo (*Stipa ichu*) y Cotopaxi (*Calamagrostis intermedia*).

3.3.3 Ubicación:

- El muestreo de la paja *Calamagrostis intermedia* fue realizado en la provincia del Cotopaxi en el sector el arenal de la reserva ecológica Cotopaxi.
- El muestreo de la paja *Stipa ichu* fue realizado en la provincia del Chimborazo en el sector el arenal de la reserva ecológica del Chimborazo vía Riobamba.

3.4 Diseño experimental:

Variables de la investigación:

- **Variable dependiente:**
Concentración de azúcar reductor
- **Variable independiente:**
2 Variedades de Pajas
Concentración de ácidos (HCl y H₂SO₄)
Tiempo

3.5 Técnicas e instrumentos analíticos:

3.5.1 Materiales:

- Paja (*Calamagrostis intermedia*, *Stipa ichu*)
- Molino
- balanza
- 4 equipos de reflujo
- Probeta
- Pizeta
- 4 mecheros
- Papel filtro
- 4 embudos
- 2 balones aforados de 500mL
- 1 balón aforado de 250mL
- 3 pipetas de 10mL
- 6 erlenmeyers
- 4 equipos de soporte universal
- 4 pinzas para refrigerantes
- 4 pinzas para balones
- Cocineta
- 4 frascos de vidrio
- 7 frascos ámbar
- Bureta de 50mL
- pH metro
- Cronómetro
- Embudo buchner

- Bomba de vacío

3.5.2 Reactivos:

- Sacarosa
- Sulfato de cobre
- Tartrato de sodio y potasio
- Hidróxido de sodio
- Ácido sulfúrico (H_2SO_4) 2%, 4%, 6% y 8%
- Ácido clorhídrico (HCl) 2%, 4%, 6% y 8%
- Hidróxido de sodio (NaOH) 2N
- Hidróxido de sodio (NaOH) 20%
- Agua destilada
- Carbón activado
- Azul de metileno
- Fenolftaleína

3.5.3 Técnicas:

3.5.3.1 Preparación de la muestra:

Una vez recolectada la paja se procede a colocarla sobre papel periódico y se la expone indirectamente al sol, se realiza este procedimiento de secar la paja y posteriormente se procede a moler, se conserva en bolsas sellopack todo el material vegetal.

3.5.3.2 Hidrólisis ácida:

El material vegetal previamente molido, se procede a pesar 20g de paja en un balón de 500mL esmerilado, se coloca 250 mL del ácido y se lo somete a hidrólisis ácida mediante ebullición a reflujo a presión atmosférica a una temperatura de 100°C , empleando ácido sulfúrico o ácido clorhídrico a diferentes concentraciones de 2%, 4%, 6% y 8% peso a peso y diferentes tiempos de 4, 8 y 12 horas, siendo un total de 24 experimentaciones.

En la siguiente lista se presenta el diseño experimental del proceso de hidrólisis ácida con sus distintas variables.

Diseño Experimental para la hidrólisis ácida de residuos agrícolas

Variables	Niveles para cada variable
Sustratos	Pajas <i>Calamagrostis intermedia</i> , <i>Stipa ichu</i> .
Porcentajes de ácido sulfúrico	2%, 4%, 6%, 8%
Porcentajes de ácido clorhídrico	2%, 4%, 6%, 8%
Tiempo de reacción (horas)	4, 8 y 12
Variable de respuesta	% de azúcares reductores producidos

3.5.3.3 Determinación de azúcares:

Está basada de acuerdo a la técnica de Azúcares reductores en piensos 974.06 (AOAC) por el Método de Fehling, preparación de reactivos:

3.5.3.3.1 Reactivos:

La solución de Fehling Soxhlet se prepara mezclando volúmenes iguales de A y B.

a. Solución de sulfato de Cobre:

Disolver 34.639g de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ en agua, diluir hasta 500mL y filtrar con lana de vidrio o papel.

b. Solución alcalina de tartrato:

Disolver 173g de tartrato de sodio y potasio (Sal de Rochelle) y 50g de NaOH en agua y diluir a 500mL, dejar en reposo por 2 días, filtrar a través de lana de vidrio.

c. Solución estándar de azúcar invertido al 1%(solución madre): 10mg/mL

Disolver 9.5g de sacarosa pura, añadir 5mL de HCl y diluir con 100mL de agua. Almacenar varios días a temperatura ambiente (aproximadamente 7 días a 12°-15° o por 3 días a 20°-25°C), luego diluir a 1L.

d. Solución de trabajo: 5mg/mL

Pipetear 100mL de la solución madre en un matraz aforado de 200mL añadir unas gotas de fenolftaleína y neutralizar con NaOH al 20%, diluir a volumen y mezclar bien, preparar diariamente.

e. Preparación de la solución de prueba:

Pesar 8g de la muestra hidrolizada en un matraz aforado de 500mL diluir a volumen y mezclar bien, filtrar, descartar los 25mL de la primera filtrada, cubrir durante la filtración con un vidrio reloj para evitar la evaporación.

3.5.3.3.2 Normalización de los reactivos Fehling:

Llenar la bureta con 50mL de solución de trabajo estándar que contiene 5mg en 1mL de azúcar invertido, pipetear 10mL con precisión cada solución Fehling A y B en un erlenmeyer de 300mL y agregar 30mL de agua destilada, agregar 19mL aproximadamente de la solución de trabajo, necesarios para reducir el Cu, agregar núcleos de ebullición, mezclar bien, colocar en la coccineta, regular el calor de manera que inicie la ebullición aproximadamente en 3 minutos y mantener en ebullición moderada exactamente 2 minutos reduciendo el calor, si es necesario para evitar un cambio brusco.

Sin quitar el matraz del calentador, añadir 4 gotas de solución al 1% de azul de metileno acuoso y concluir la titulación en un tiempo de ebullición total de unos 3 minutos por adición gota a gota de la solución de trabajo estándar, en intervalos aproximadamente de 10 segundos mezclar hasta que se reanude el color naranja brillante que había antes de añadir el indicador, mantener la evolución continua de vapor para evitar re-oxidación por vía aérea. Repetir la normalización varias veces. Determinar el factor F que es el número promedio de los mililitros de la solución de azúcar invertido requerido para reducir completamente 20 mL de la solución Fehling.

3.5.3.3.3 Titulación aproximada de la solución de prueba:

Determinar el contenido de azúcar en la solución de prueba de la siguiente manera: pipetear con precisión 10mL de cada solución Fehling A y B, en un erlenmeyer de 300mL mezclar y agregar 10mL de azúcar invertido de la solución de ensayo, agregar 40mL de agua de manera que el volumen de agua más el volumen de la solución del análisis de prueba sea 50mL.

Mezclar sin calentar agitando, agregar núcleos de ebullición en el matraz y colocarlo en la coccineta, regular el calor de manera que inicie el punto de ebullición aproximadamente en 3 minutos, después de 10-15 segundos que el líquido haya hervido, observar los cambios en el color de la solución, si el color azul se mantiene, añadir la solución de trabajo estándar entre 0,5 a 1mL por algunos segundos, hay que tener cuidado de llegar al punto final, agregar de 3 a 4 gotas de la solución azul de metileno y seguir añadiendo la solución azúcar, 1mL aproximadamente en intervalos de 10 segundos, hasta que el indicador se haya decolorado por completo. En la tabla 3.1 se detalla los volúmenes de agua y de muestras que se deben de tomar para realizar los respectivos análisis.

Tabla3.1. Alícuotas en mL para análisis

V de H ₂ O(mL)	V de alícuota(mL)	g de muestra en alícuota
40	10	0,16
35	15	0,24
30	20	0,32
25	25	0,40
20	30	0,48
10	40	0,64
-----	50	0,80

Nota: Para la parte experimental nos basamos en el primer ítem de la tabla. **Por: AOAC**
968.28

3.5.3.3.4 Cálculo:

$$\% \text{ Azúcar Reductor (AR)} = \frac{(F - M) \times 100 \times I}{W}$$

F= Son los mL de la solución de azúcar estándar necesarios para reducir 20mL de reactivos soxhlet.

M= Son los mL de la solución de azúcar estándar utilizados en la titulación de la solución de ensayo.

I= g de azúcar invertido en 1mL de solución de trabajo de azúcar estándar.

W= g de muestra de la alícuota utilizada.

3.5.3.4 Diagramas de procesos:

A continuación se presenta la figura 3.1 donde se indica la recolección y preparación de la paja:

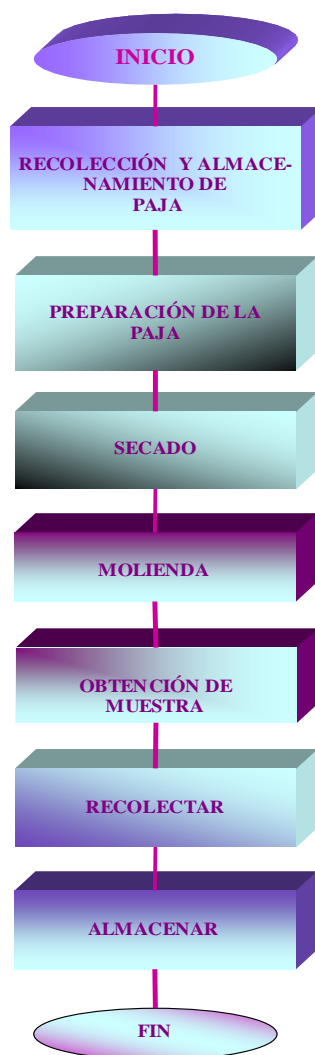


Figura 3.1 Recolección y preparación de paja

A continuación se presenta la figura 3.2 donde se indica mediante el diagrama de flujo el proceso de hidrólisis.



Figura3.2 Proceso de hidrólisis

Se presenta en la figura 3.3 mediante el siguiente diagrama la determinación de azúcares reductores.

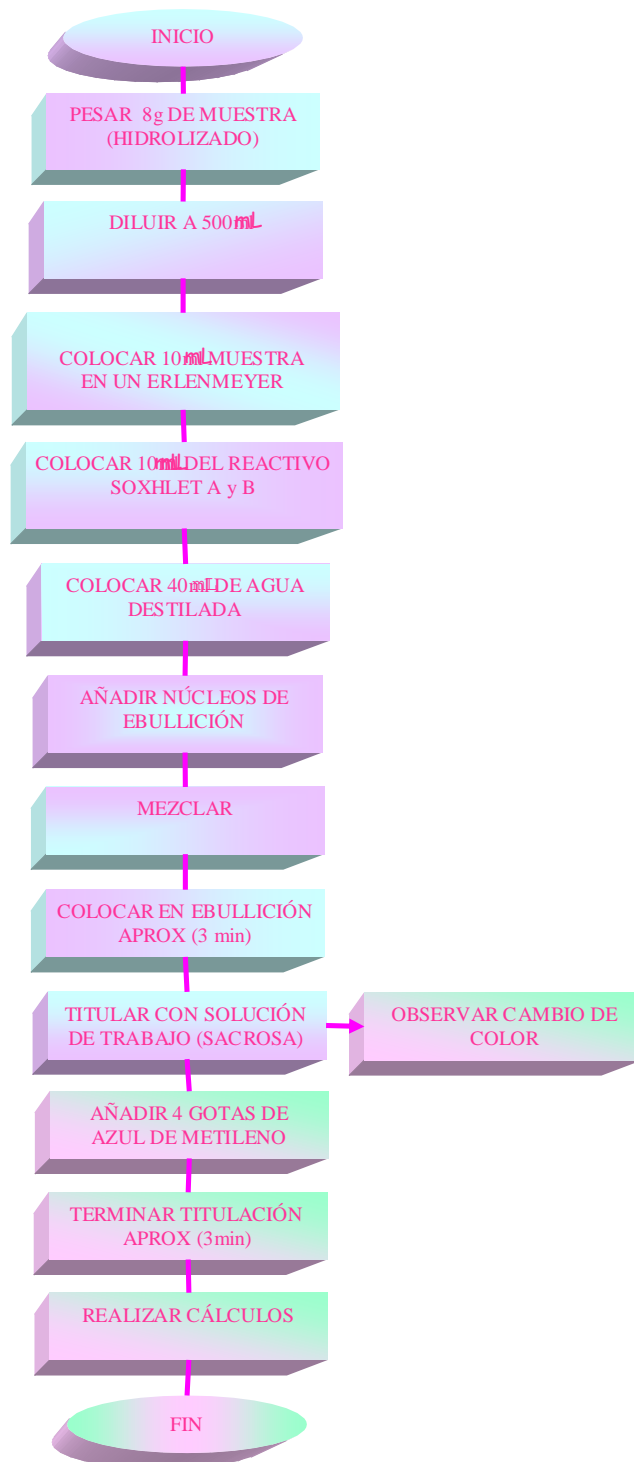


Figura 3.3 Determinación de azúcares reductores

CAPITULO IV

4. RESULTADOS Y DISCUSION

4.1 Análisis y discusión de resultados:

Para la realización de los cálculos se procedió aplicar la formula según indica en la técnica estandarizada de la **AOAC 974.06**:

$$\% \text{ Azúcar Reductor (AR)} = \frac{(F - M) \times 100 \times I}{W}$$

4.1.1 Cálculo del factor F:

El factor F son los mL de la solución de azúcar estándar necesarios para reducir 20mL de reactivos Fehling, del cual se procedió a tomar 10 mL de cada reactivo de Fehling A y B más 30 mL de agua destilada se colocó a ebullición y se añadió 4 gotas de azul de metileno al 1% y se tituló con la solución de trabajo estándar de sacarosa existiendo un cambio de coloración de azul a rojo intenso, en la siguiente lista se detalla los datos obtenidos en la estandarización de los reactivos de Fehling:

Estandarización de los reactivos de Fehling

Muestras	V _x - de sacarosa(mL)	Factor F
M1	21,5	21,5
M2	23,5	23,5

Los valores de F son utilizados para los cálculos de porcentaje de azúcar reductor, el valor de M1 es usado en los cálculos de la hidrólisis con HCl debido a que estos fueron los primeros análisis y se tuvo que preparar por segunda vez los reactivos de Fehling lo que pertenece a M2 el cual es aplicado para los cálculos de la hidrólisis con H₂SO₄.

En la lista de estandarización de los reactivos de Fehling se observa la variación que existe entre los dos datos obtenidos del factor F esto se debe a la apreciación en la titulación de las muestras, es decir en el cambio de viraje ya que al momento de titular existe un cambio de color azul a morado y posteriormente a rojo intenso en este lapso de azul a morado todavía persiste la coloración azul del indicador azul de metileno, finaliza la titulación cuando este desaparece, lo que da que en cuestión de segundos existe el cambio repentino a rojo siendo esto muy rápido y difícil de percibir en el instante del viraje.

4.1.2 Blancos de las muestras:

Los blancos de las muestras consto en someter a ebullición o reflujo de 4 horas con H₂O a la PCI y al PSI para determinar que al realizar este procedimiento no se obtuvo azúcar, tal como se indica en la siguiente lista donde se detalla los datos obtenidos en la experimentación de los blancos de las muestras.

Blancos de las muestras

Muestras	pH	V de sacarosa (mL)
----------	----	--------------------

PCI	6,40	23,9
-----	------	------

PSI	5,16	23,7
-----	------	------

El factor a utilizar es el M2 (**F=23,5**) en los siguientes cálculos donde se muestra que al realizar la hidrólisis de 4 horas con agua no existió degradación de la celulosa por lo tanto no existe azúcar ya que los valores obtenidos en la titulación de sacarosa son valores un poco más altos que el factor.

4.1.2.1 Determinación del blanco de la PCI:

$$\% AR_{PCI} = \frac{(23,5 - 23,9) \times 100 \times 5E - 3}{0,16}$$

$$\% AR_{PCI} = -1,3$$

4.1.2.2 Determinación del blanco de la PSI:

$$\% AR_{PSI} = \frac{(23,5 - 23,7) \times 100 \times 5E - 3}{0,16}$$

$$\% AR_{PSI} = -0,6$$

En la lista siguiente detalla los porcentajes de azúcares reductores obtenidos en cada una de las hidrólisis de las muestras PCI y PSI con agua a 4 horas.

Porcentajes de Azúcares Reductores de la PSI y PCI con H₂O a 4h

Muestras	AR (%)
----------	--------

PCI	-1,3
-----	------

PSI	-0,6
-----	------

Estos porcentajes obtenidos en la experimentación son valores negativos debido a que los mL consumidos de sacarosa mencionados en la tabla 6 son mayores al factor F utilizados en los cálculos, esto se debe a que no existe presencia de azúcar, en las hidrólisis realizadas con agua, en este análisis no existió modificación o cambio de pH debido que se encontraba en valores de 5-6, este análisis determina que al realizar este tipo de hidrólisis solo con agua sin modificaciones no hidrolizan o degradan la celulosa.

4.1.3 Muestra:

Después de las hidrólisis realizadas a la PCI y PSI a diferentes concentraciones de ácidos y a distintos tiempos, se peso 8g de cada una de las muestras hidrolizadas en un matraz aforado de 500mL se diluyo a volumen, se filtro descartando los primeros 25mL y posteriormente se procedió a realizar la determinación de azúcares reductores por el método de Fehling.

4.1.4 W:

W son los gramos de muestra de la alícuota utilizada, estos valores se encuentran expresados en la tabla 3.1.

4.2 Determinación de azúcar reductor de la PCI hidrolizada con HCl :

Antes de realizar la determinación del porcentaje de azúcares reductores que contienen las muestras hidrolizadas se procedió a modificar el pH de 0 a 4,5 aproximadamente en cada una de las muestras con NaOH 2N, existiendo un cambio de coloración de amarillo oscuro a café, se colocó carbón activado, para su posterior filtración, obteniendo las muestras de color amarillo claro listas para el análisis. A continuación se presenta el cálculo de valoración del NaOH 2N:

$$N = \frac{\text{g soluto}}{\text{Peq} \times V(L)}$$

$$\text{g soluto} = N \times \text{Peq} \times V(L)$$

$$\text{g soluto} = 2 \times 40 \times 1L$$

$$\text{g soluto} = 80g \text{ NaOH}$$

Valoración :

15mL

Punto de equivalencia :

$$\# \text{Eq NaOH} = \# \text{Eq KHF}$$

$$\# \text{Eq KHF} = N \times V$$

$$\# \text{Eq KHF} = 2 \times 0,015 \text{L}$$

$$\# \text{Eq KHF} = 0,03$$

$$\# \text{Eq KHF} = \frac{g}{\text{Peq}}$$

$$g = \# \text{Eq KHF} \times \text{Peq}$$

$$g = 0,03 \times 204,23$$

$$g = 6,13 \text{g KHF}$$

$$N = \frac{g \text{ soluto}}{\text{Peq} \times V}$$

$$N = \frac{6,13 \text{g}}{204,23 \times 0,0152}$$

$$N = 1,97 \text{NaOH}$$

Este valor no es utilizado en ningún cálculo, el NaOH 2N es usado para modificar el pH de las muestras después de realizar las respectivas hidrólisis.

En la determinación de azúcar reductor por el método de Fehling se procedió a tomar 10mL de cada una de las muestras hidrolizadas en un erlenmeyer de 250mL, se añadió 40mL de agua destilada y 10mL de los reactivos Fehling A y B dando un color azul, se lleno la bureta con la solución de trabajo de sacarosa que contiene 5mg/mL, se colocó a ebullición y se procedió añadir poco a poco la solución de sacarosa existiendo un cambio de coloración de azul a color vino se añadió unas gotas de azul de metileno y se concluyó con la titulación hasta un color rojizo, este procedimiento se repitió 3 veces para cada una de las muestras en donde la media de los valores obtenidos son utilizados para los cálculos antes mencionados.

4.2.1 Hidrólisis de la (PCI) al 2% de HCl por 4h:

En la lista siguiente se muestra los volúmenes consumidos de la solución de trabajo estándar de sacarosa ($\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$) sometida a una hidrólisis de 4 horas con HCl al 2%.

Determinaciones V de sacarosa (mL)

T1 17,4

T2 17,8

T3 17,6

Total 52,8

x⁻ 17,6

$$\% \text{ AR} = \frac{(21,5 - 17,6) \times 100 \times 5E - 3}{0,16}$$

$$\% \text{ AR} = 12,2$$

4.2.2 Hidrólisis de la (PCI) al 4% de HCl por 4h:

En la siguiente lista se detalla los volúmenes consumidos de la solución de trabajo estándar de sacarosa (C₁₂H₂₂O₁₁) en la hidrólisis de 4 horas con HCl al 4%.

Determinaciones V de sacarosa(mL)

T1 16,4

T2 16,1

T3 16,2

Total 48,7

x⁻ 16,2

$$\% \text{ AR} = \frac{(21,5 - 16,2) \times 100 \times 5E - 3}{0,16}$$

$$\% \text{ AR} = 16,6$$

4.2.3 Hidrólisis de la (PCI) al 6% de HCl por 4h:

En la siguiente lista se indica los mililitros consumidos de la solución de trabajo de sacarosa (C₁₂H₂₂O₁₁) obtenidos de la hidrólisis de 4 horas con HCl al 6%.

Determinaciones V de sacarosa(mL)

T1 15,9

T2 16,0

T3 16,2

Total 48,1

x⁻ 16,0

$$\% \text{ AR} = \frac{(21,5 - 16,0) \times 100 \times 5E - 3}{0,16}$$

% AR=17,2

4.2.4 Hidrólisis de la (PCI) al 8% de HCl por 4h:

En la siguiente lista se presenta los volúmenes de la solución de sacarosa (C₁₂H₂₂O₁₁) obtenidos de la hidrólisis de 4 horas al 8% del HCl.

Determinaciones V de sacarosa(mL)

T1 16,9

T2 16,9

T3 17,0

Total 50,8

x⁻ 16,9

$$\% \text{ AR} = \frac{(21,5 - 16,9) \times 100 \times 5E - 3}{0,16}$$

% AR=14,4

A continuación en la siguiente lista se indica los porcentajes de azúcares reductores de la hidrólisis de 4 horas a las distintas concentraciones del HCl para la PCI, con su respectiva figura 4.1.

HCl (%)	AR (%)
2	12,2
4	16,6
6	17,2
8	14,4

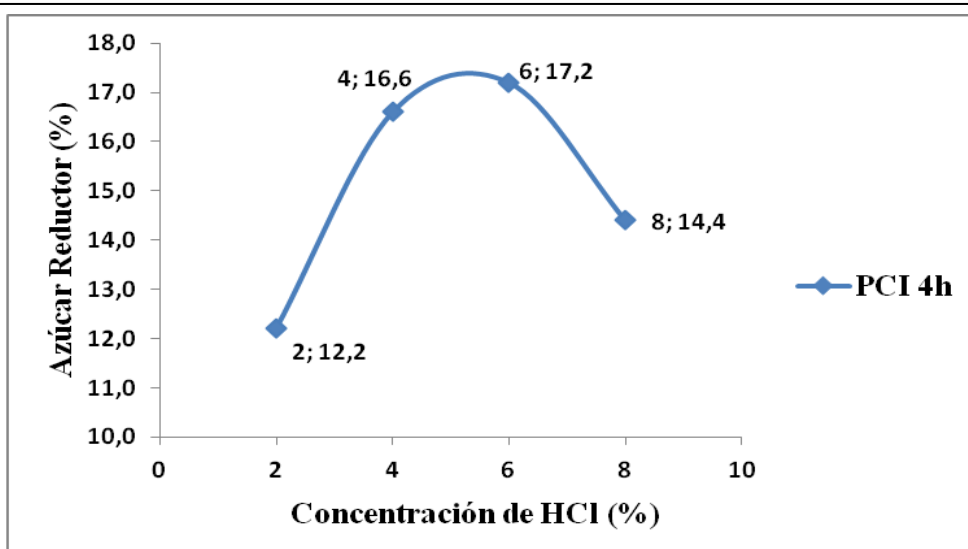


Figura 4.1. Hidrólisis de 4h de la PCI con HCl a diferentes concentraciones.

Se observa en porcentajes de azúcares reductores obtenidos en las hidrólisis de 4 horas que para la PCI con HCl a distintas concentraciones, determinando que el valor más alto es en la concentración al 6% de HCl (17,2%) y el menor valor es con HCl al 2% (12,2%).

En la figura 4.1 se observa la curva de los porcentajes de azúcar reductor determinando que entre las hidrólisis con HCl al 4% y 6% no existe mucha diferencia en los datos obtenidos siendo de 16,6% y 17,2% respectivamente, mientras que al utilizar HCl al 8% existe un decremento de azúcar esto se puede deber que al ser un ácido monoprótico perdió su fuerza de acción y comenzó a degradar azúcar, por lo cual al momento de realizar el análisis mediante la técnica de Fehling se obtuvo menor porcentaje que a las otras concentraciones.

4.2.5 Hidrólisis de la (PCI) al 2% de HCl por 8h:

A continuación se detalla en la siguiente lista los volúmenes consumidos de la solución de trabajo estándar de sacarosa ($C_{12}H_{22}O_{11}$) de la hidrólisis de 8 horas con HCl al 2%, posteriormente se indica el cálculo del porcentaje de azúcar reductor.

Determinaciones	V de sacarosa(mL)
T1	16,5
T2	16,6
T3	16,6
Total	49,7
x ⁻	16,6

$$\% \text{ AR} = \frac{(21,5 - 16,6) \times 100 \times 5E - 3}{0,16}$$

$$\% \text{ AR} = 15,3$$

4.2.6 Hidrólisis de la (PCI) al 4% de HCl por 8h:

En la siguiente lista se muestra los volúmenes obtenidos del consumo de la solución de trabajo estándar de sacarosa de la hidrólisis de 8 horas con HCl al 4% mediante el método de Fehling.

Determinaciones	V de sacarosa(mL)
T1	16,3
T2	16,0
T3	16,2
Total	48,5
x ⁻	16,2

$$\% \text{ AR} = \frac{(21,5 - 16,2) \times 100 \times 5E - 3}{0,16}$$

$$\% \text{ AR} = 16,6$$

4.2.7 Hidrólisis de la (PCI) al 6% de HCl por 8h:

En la siguiente lista se detalla los volúmenes consumidos en la titulación con la solución de trabajo estándar de sacarosa (C₁₂H₂₂O₁₁) de la hidrólisis de 8 horas con HCl al 6% para la muestra PCI.

Determinaciones	V de sacarosa(mL)
T1	15,8
T2	15,9
T3	16,0
Total	47,7
x ⁻	15,9

$$\% \text{ AR} = \frac{(21,5 - 15,9) \times 100 \times 5E - 3}{0,16}$$

$$\% \text{ AR} = 17,5$$

4.2.8 Hidrólisis de la (PCI) al 8% de HCl por 8h:

En la lista a continuación se indica los volúmenes obtenidos del consumo de la solución de trabajo estándar de sacarosa de la hidrólisis de 8 horas con HCl al 8%.

Determinaciones	V de sacarosa (mL)
T1	16,1
T2	15,9
T3	15,8
Total	47,8
x ⁻	15,9

$$\% \text{ AR} = \frac{(21,5 - 15,9) \times 100 \times 5E - 3}{0,16}$$

$$\% \text{ AR} = 17,5$$

A continuación se presenta la lista de los porcentajes de azúcares reductores de las hidrólisis de 8 horas de la PCI con HCl a distintas concentraciones y su respectiva representación gráfica la figura 4.2.

HCl (%)	AR (%)
2	15,5
4	16,6
6	17,5
8	17,5

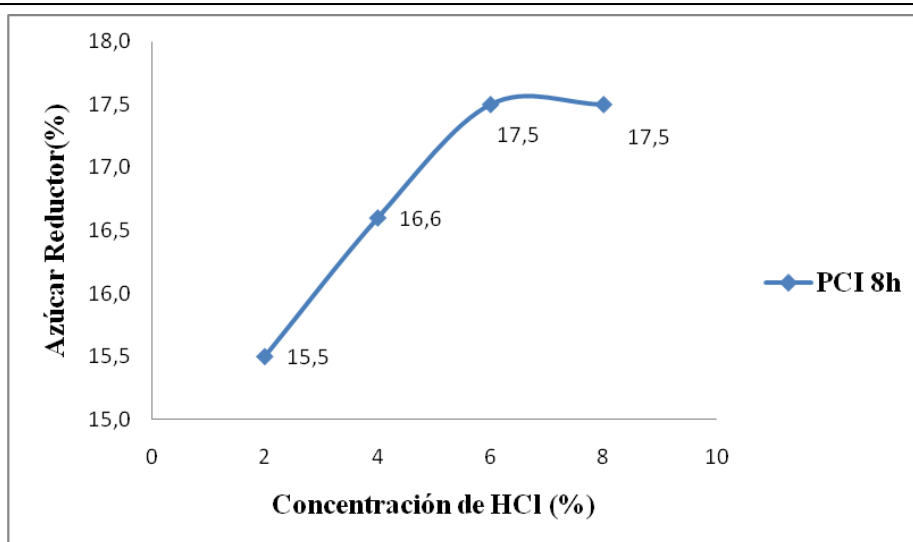


Figura4.2.Hidrólisis de 8h de la PCI a diferentes concentraciones de HCl.

En la lista de porcentajes de azúcares de una hidrólisis de 8 horas se observó que el porcentaje de azúcar reductor más alto de estas hidrólisis de 8 horas, es de 17,5% al 6 y 8% de HCl, mientras que el menor valor corresponde al 2% de HCl (15,5%) esto se debe a que a mayor concentración de este ácido es más fácil hidrolizar o romper la estructura celulósica de la paja (PCI).

En la figura 4.2 se puede ver la curva de porcentaje de azúcar reductor de las muestras hidrolizadas, determinando que la concentración de HCl al 6 y 8% son de 17,5% de azúcar, lo cual indica que se hidrolizo, o la fuerza de acción del ácido disminuyo, por lo que si se le seguiría poniendo por mayor tiempo el porcentaje al 8% disminuiría debido a que el azúcar se degradaría.

4.2.9 Hidrólisis de la (PCI) al 2% de HCl por 12h:

En la siguiente lista se presenta los volúmenes de la solución de trabajo estándar de sacarosa consumidos en la titulación de la PCI por el método de Fehling en la hidrólisis de 12 horas con HCl al 2%.

Determinaciones	V de sacarosa (mL)
-----------------	--------------------

T1	16,1
----	------

T2	15,9
----	------

T3	15,9
----	------

Total	47,9
-------	------

x ⁻	16,0
----------------	------

$$\% \text{ AR} = \frac{(21,5 - 16) \times 100 \times 5E - 3}{0,16}$$

$$\% \text{ AR} = 17,2$$

4.2.10 Hidrólisis de la (PCI) al 4% de HCl por 12h:

En la lista siguiente se indica los mililitros consumidos de la solución de trabajo estándar de sacarosa de la muestra PCI en la hidrólisis de 12 horas con HCl al 4%.

Determinaciones	V de sacarosa (mL)
-----------------	--------------------

T1	16,0
----	------

T2	15,7
----	------

T3	15,8
----	------

Total	47,5
-------	------

x ⁻	15,8
----------------	------

$$\% \text{ AR} = \frac{(21,5 - 15,8) \times 100 \times 5E - 3}{0,16}$$

$$\% \text{ AR} = 17,8$$

4.2.11 Hidrólisis de la (PCI) al 6% de HCl por 12h:

A continuación en la siguiente lista se muestra los volúmenes consumidos de la solución de trabajo estándar de sacarosa ($C_{12}H_{22}O_{11}$) de la hidrólisis de 12 horas con HCl al 6%.

Determinaciones	V de sacarosa (mL)
-----------------	--------------------

T1	15,7
----	------

T2	15,7
----	------

T3	15,8
----	------

Total	47,2
-------	------

\bar{x}	15,7
-----------	------

$$\% AR = \frac{(21,5 - 15,7) \times 100 \times 5E - 3}{0,16}$$

% AR =18,1

4.2.12 Hidrólisis de la (PCI) al 8% de HCl por 12h:

En la siguiente lista se detalla los volúmenes consumidos de la solución estándar de sacarosa de la hidrólisis de 12 horas al 8% del HCl para la muestra PCI .

Determinaciones	V de sacarosa (mL)
-----------------	--------------------

T1	15,7
----	------

T2	15,8
----	------

T3	15,9
----	------

Total	47,4
-------	------

\bar{x}	15,8
-----------	------

$$\% AR = \frac{(21,5 - 15,8) \times 100 \times 5E - 3}{0,16}$$

% AR =17,8

En la siguiente lista se muestra los porcentajes de azúcares reductores de las hidrólisis de 12 horas a distintas concentraciones de HCl, posteriormente se representa estos datos en la figura4.3.

HCl (%)	AR (%)
2	17,2
4	17,8
6	18,1
8	17,8

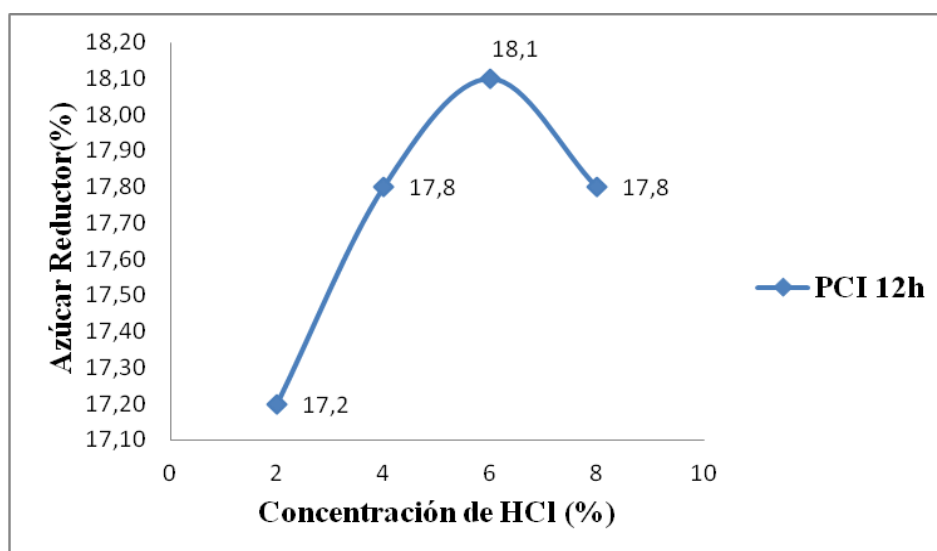


Figura4.3 Hidrólisis de 12h de la PCI a diferentes concentraciones de HCl

En la lista de porcentajes de azúcares reductores de la hidrólisis de 12 horas con HCl para la PCI se observa que los valores obtenidos por el método de Fehling, indican que el valor más alto es de 18,1% de azúcar reductor al 6% de HCl, mientras que al 4 y 8% de HCl se obtuvo el mismo valor de 17,8%.

En la figura 4.3 se ve que en la curva porcentual existe disminución en la concentración de azúcar al 8% de HCl, determinando que la azúcar formada en el transcurso de 12 horas comenzó a degradarse, por esta razón este valor llegó a ser igual al 4% de HCl, esto también se puede deber a que bajo la acción del ácido.

A continuación se presenta en la tabla 4.1 un resumen de todos los porcentajes de azúcares reductores obtenidos de las 3 hidrólisis realizadas a la PCI a diferentes concentraciones de HCl y a distintos tiempos con su respectiva figura 4.4.

Tabla4.1 Porcentajes de azúcares reductores de la PCI obtenidos de las respectivas hidrólisis con HCl.

Tratamiento	%HCl	Tiempo de hidrólisis (Horas)	% AR de la PCI W=0,16
1	2	4	12,2
2	4	4	16,6
3	6	4	17,2
4	8	4	14,4
5	2	8	15,5
6	4	8	16,6
7	6	8	17,5
8	8	8	17,5
9	2	12	17,2
10	4	12	17,8
11	6	12	18,1
12	8	12	17,8

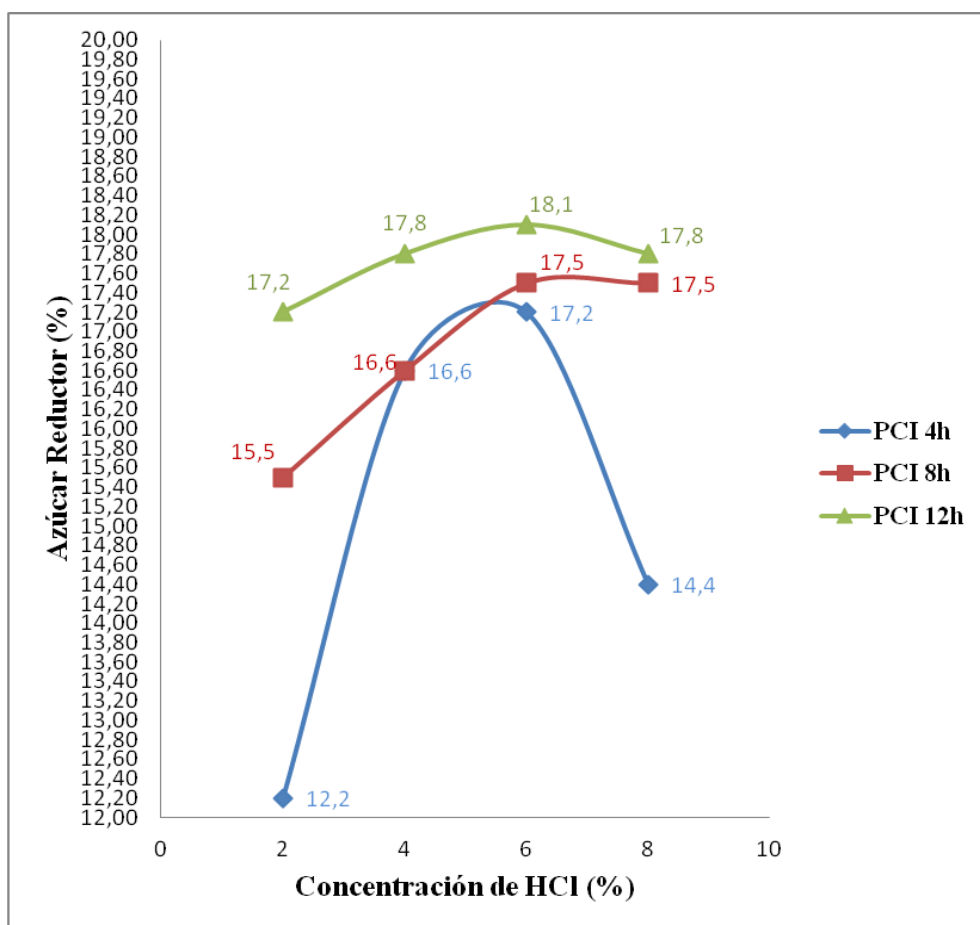


Figura 4.4. Hidrólisis de la PCI a diferentes concentraciones de ácidos y tiempos.

En la tabla 4.1 se presenta el resumen de los porcentajes de azúcares reductores de las hidrólisis con HCl hechas a la PCI, al realizar una comparación se determinó que se obtuvo una menor concentración con HCl al 2% por 4 horas (12,20%), el mayor valor conseguido fue al 6% HCl por 12 horas (18,1%), indicando que las hidrólisis óptimas en estos procesos sería al 6% de HCl ya que a cualquier tiempo colocado en la experimentación genera los mejores datos en comparación con el ácido más concentrado, ya que el azúcar formada comienza a descomponerse perdiendo producto, esto se puede ver en la figura 4.4 ya que a partir del 8% de HCl todos los porcentajes comienza a decrecer.

En la figura 4.4 se observa que entre la hidrólisis de 8h y 12h tienen valores alrededor del 17% de azúcar, lo que significa que si se llegara a dejar la hidrólisis por más tiempo, existiría una disminución de la concentración de azúcar ya que el material celulósico no se hidrolizado en su totalidad debido a la pérdida de acción del ácido por ser monoprótico, cabe recalcar que mientras más concentrado es más fácil la ruptura de los componentes de la paja.

4.3 Determinación de azúcares reductores de la PSI hidrolizada con HCl:

FACTOR F: 21,5

4.3.1 Hidrólisis de la (PSI) al 2% de HCl por 4h:

En la siguiente lista se detallan los volúmenes de la solución de trabajo estándar de sacarosa de la hidrólisis de 4 horas con HCl al 2%.

Determinaciones	V de sacarosa (mL)
T1	15,9
T2	16,0
T3	15,8
Total	47,7
\bar{x}	15,9

$$\% \text{ AR} = \frac{(21,5 - 15,9) \times 100 \times 5E - 3}{0,16}$$

$$\% \text{ AR} = 17,5$$

4.3.2 Hidrólisis de la (PSI) al 4% de HCl por 4h:

A continuación se presenta la lista con los volúmenes obtenidos del consumo de la solución de trabajo estándar de sacarosa ($\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$) de la hidrólisis de 4 horas con HCl al 4%.

Determinaciones	V de sacarosa (mL)
T1	15,6
T2	15,6
T3	15,7
Total	46,9
\bar{x}	15,6

$$\% \text{ AR} = \frac{(21,5 - 15,6) \times 100 \times 5E - 3}{0,16}$$

$$\% \text{ AR} = 18,4$$

4.3.3 Hidrólisis de la (PSI) al 6% de HCl por 4h:

En la lista a continuación se indica los volúmenes obtenidos en el consumo de la solución de trabajo estándar de sacarosa de una hidrólisis de 4 horas con HCl al 6% para la PSI.

Determinaciones	V de sacarosa (mL)
-----------------	--------------------

T1	15,8
----	------

T2	15,6
----	------

T3	15,8
----	------

Total	47,2
-------	------

x ⁻	15,7
----------------	------

$$\% \text{ AR} = \frac{(21,5 - 15,7) \times 100 \times 5E - 3}{0,16}$$

% AR =18,1

4.3.4 Hidrólisis de la (PSI) al 8% de HCl por 4h:

En la siguiente lista se detalla los volúmenes consumidos de la solución de trabajo estándar de sacarosa de la hidrólisis de 4 horas con HCl al 8%.

Determinaciones	V de sacarosa (mL)
-----------------	--------------------

T1	15,4
----	------

T2	15,4
----	------

T3	15,1
----	------

Total	45,9
-------	------

x ⁻	15,3
----------------	------

$$\% \text{ AR} = \frac{(21,5 - 15,3) \times 100 \times 5E - 3}{0,16}$$

% AR =19,4

Se presenta en la lista a continuación los porcentajes de azúcares reductores obtenidos en la hidrólisis de 4 horas de la PSI con HCl y su respectiva figura 4.4.

HCl (%)	AR(%)
2	17,5
4	18,4
6	18,1
8	19,4

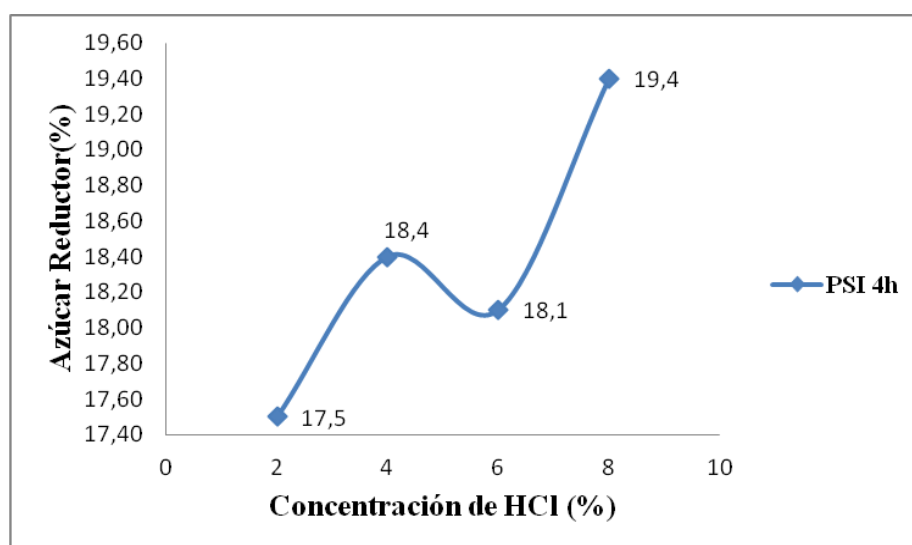


Figura 4.5. Hidrólisis de 4h de la PSI con HCl a diferentes concentraciones.

En la lista de los porcentajes de azúcares reductores de las hidrólisis de 4 horas de la PSI, se indica que el porcentaje más alto es al 8% de HCl siendo de 19,4% de azúcar, se observa en la figura 4.5 que la curva tiende a crecer, y que existe una pequeña disminución al 6% de HCl esto se debe a que pudo existir error en el cambio del viraje en la titulación, ya que podemos fijarnos que entre el 4 y 6% de HCl no existe mucha diferencia entre los datos.

4.3.5 Hidrólisis de la (PSI) al 2% de HCl por 8h:

En la siguiente lista se presenta los volúmenes obtenidos del consumo de la solución de trabajo estándar de sacarosa ($C_{12}H_{22}O_{11}$) de la hidrólisis de 8 horas al 2% de HCl para la PSI.

Determinaciones	V de sacarosa (mL)
T1	15,8
T2	15,7
T3	15,5
Total	47,0
x⁻	15,7

$$\% \text{ AR} = \frac{(21,5 - 15,7) \times 100 \times 5E - 3}{0,16}$$

$$\% \text{ AR} = 18,1$$

4.3.6 Hidrólisis de la (PSI) al 4% de HCl por 8h:

En la siguiente lista se indica los volúmenes consumidos de la solución de trabajo estándar de sacarosa para la PSI de la hidrólisis de 8 horas con HCl al 4%.

Determinaciones	V de sacarosa(mL)
T1	15,3
T2	15,2
T3	15,5
Total	46,0
x⁻	15,3

$$\% \text{ AR} = \frac{(21,5 - 15,3) \times 100 \times 5E - 3}{0,16}$$

$$\% \text{ AR} = 19,4$$

4.3.7 Hidrólisis de la (PSI) al 6% de HCl por 8h:

A continuación se presenta los volúmenes consumidos de la solución de trabajo estándar de sacarosa (C₁₂H₂₂O₁₁) de la hidrólisis de 8 horas con HCl al 6%.

Determinaciones V de sacarosa (mL)

T1	15,3
T2	15,2
T3	15,0
Total	45,5
x⁻	15,2

$$\% \text{ AR} = \frac{(21,5 - 15,2) \times 100 \times 5E - 3}{0,16}$$

$$\% \text{ AR} = 19,7$$

4.3.8 Hidrólisis de la (PSI) al 8% de HCl por 8h:

A continuación se detalla los volúmenes obtenidos en la titulación con la solución de trabajo estándar de sacarosa de la hidrólisis de 8 horas con HCl al 8%.

Determinaciones V de sacarosa (mL)

T1	15,2
T2	15,2
T3	15,4
Total	45,8
x⁻	15,3

$$\% \text{ AR} = \frac{(21,5 - 15,3) \times 100 \times 5E - 3}{0,16}$$

$$\% \text{ AR} = 19,4$$

En la lista siguiente se indica los porcentajes de azúcares reductores obtenidos de las hidrólisis de 8 horas de la PSI a distintas concentraciones de HCl con su respectiva representación gráfica figura 4.5.

HCl (%)	AR (%)
2	18,1
4	19,4
6	19,7
8	19,4

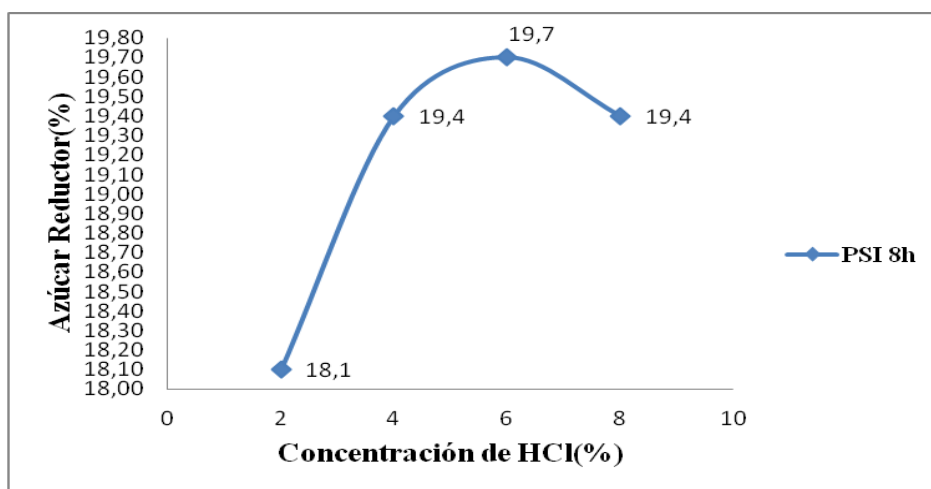


Figura 4.6. Hidrólisis de 8h de la PSI con HCl a diferentes concentraciones.

Se puede determinar mediante la lista detallada de los porcentajes de azúcares reductores obtenidos de la hidrólisis de 8 horas, menor porcentaje de azúcar reductor es de 18,1% con HCl al 2% y el más alto fue de 19,7% con HCl al 6%, cabe indicar mediante la figura 4.6 que entre el 4 y 8% de HCl se llega a obtener el mismo valor (19,4%) por lo tanto se ve que la curva decrece, estos valores se pueden deber a que hubo error en la titulación es decir en el cambio de viraje, ya que entre las concentraciones 4,6 y 8% de HCl no existe mayor diferencia representativa ya que se encuentra en el rango del 19% de azúcar reductor.

4.3.9 Hidrólisis de la (PSI) al 2% de HCl por 12h:

En la siguiente lista se detallan los volúmenes consumidos de la solución de trabajo estándar de sacarosa de la muestra PSI de una hidrólisis de 12 horas con HCl al 2%.

Determinaciones	V de sacarosa (mL)
-----------------	--------------------

T1	15,3
----	------

T2	15,5
----	------

T3	15,3
----	------

Total	46,1
-------	------

x ⁻	15,4
----------------	------

$$\% \text{ AR} = \frac{(21,5 - 15,4) \times 100 \times 5E - 3}{0,16}$$

% AR =19,1

4.3.10 Hidrólisis de la (PSI) al 4% de HCl por 12h:

En la lista a continuación se presenta los volúmenes consumidos en la titulación de la PSI con la solución de trabajo estándar de sacarosa de la hidrólisis de 12 horas con HCl al 4%.

Determinaciones	V de sacarosa (mL)
-----------------	--------------------

T1	15,3
----	------

T2	15,0
----	------

T3	15,3
----	------

Total	45,6
-------	------

x ⁻	15,2
----------------	------

$$\% \text{ AR} = \frac{(21,5 - 15,2) \times 100 \times 5E - 3}{0,16}$$

% AR =19,7

4.3.11 Hidrólisis de la (PSI) al 6% de HCl por 12h:

En la lista a continuación se muestra los valores obtenidos en la titulación de la PSI con la solución estándar de sacarosa de la hidrólisis de 12 horas con HCl al 6%.

Determinaciones	V de sacarosa (mL)
T1	15,2
T2	14,9
T3	15,0
Total	45,1
x⁻	15,0

$$\% \text{ AR} = \frac{(21,5 - 15,0) \times 100 \times 5E - 3}{0,16}$$

$$\% \text{ AR} = 20,3$$

4.3.12 Hidrólisis de la (PSI) al 8% de HCl por 12h:

En la lista a continuación se detalla los volúmenes consumidos de la solución de trabajo estándar de sacarosa de la hidrólisis de 12 horas con HCl al 8% para la PSI.

Determinaciones	V de sacarosa (mL)
T1	15,2
T2	14,9
T3	14,8
Total	44,9
x⁻	14,9

$$\text{AR} = \frac{(21,5 - 14,9) \times 100 \times 5E - 3}{0,16}$$

$$\% \text{ AR} = 20,6$$

En la siguiente lista se presenta los porcentajes de azúcares reductores obtenidos en la hidrólisis de 12 horas para la muestra PSI con HCl y su respectiva figura 4.6.

HCl (%)	AR (%)
2	19,1
4	19,7
6	20,3
8	20,6

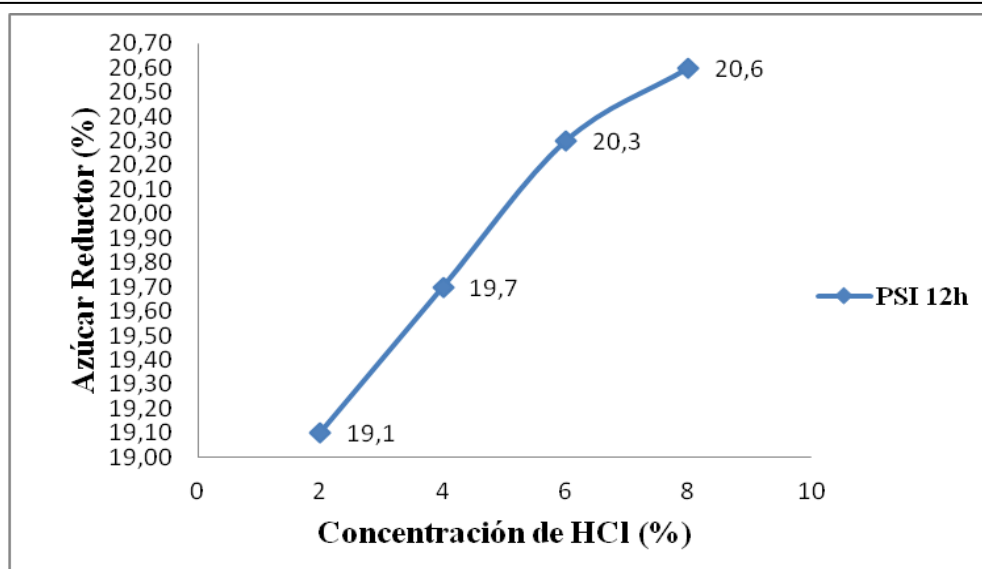


Figura 4.7. Hidrólisis de 12h de la PSI con HCl a diferentes concentraciones.

Se puede mencionar que en la lista de porcentajes de AR de la hidrólisis de 12 horas el mayor valor de azúcar reductor es con HCl al 8% siendo el valor obtenido de 20,6% de azúcar, lo cual indica que los factores de tiempo y concentración del ácido a utilizar influyen en la descomposición del material celulósico.

En la figura 4.7 se observa un crecimiento porcentual del azúcar reductor en la hidrólisis de 12 horas, determinando que este tipo de paja posee mayor material celulósico hidrolizable ya que a medida que se ha ido aumentando en tiempo el porcentaje de azúcar también lo ha hecho, lo que se puede decir que si se le dejara por más horas existiría mayor concentración.

A continuación se presenta en la tabla 4.2 los porcentajes de azúcares reductores obtenidos en las hidrólisis con la PSI a distintos tiempos y concentraciones de HCl, con su respectiva figura 4.8.

Tabla4.2 Porcentajes de azúcares reductores de la PSI obtenidos de las respectivas hidrólisis con HCl

Tratamiento	%HCl	Tiempo de hidrólisis (Horas)	% de AR de la PSI W=0,16
1	2	4	17,5
2	4	4	18,4
3	6	4	18,1
4	8	4	19,4
5	2	8	18,1
6	4	8	19,4
7	6	8	19,7
8	8	8	19,4
9	2	12	19,1
10	4	12	19,7
11	6	12	20,3
12	8	12	20,6

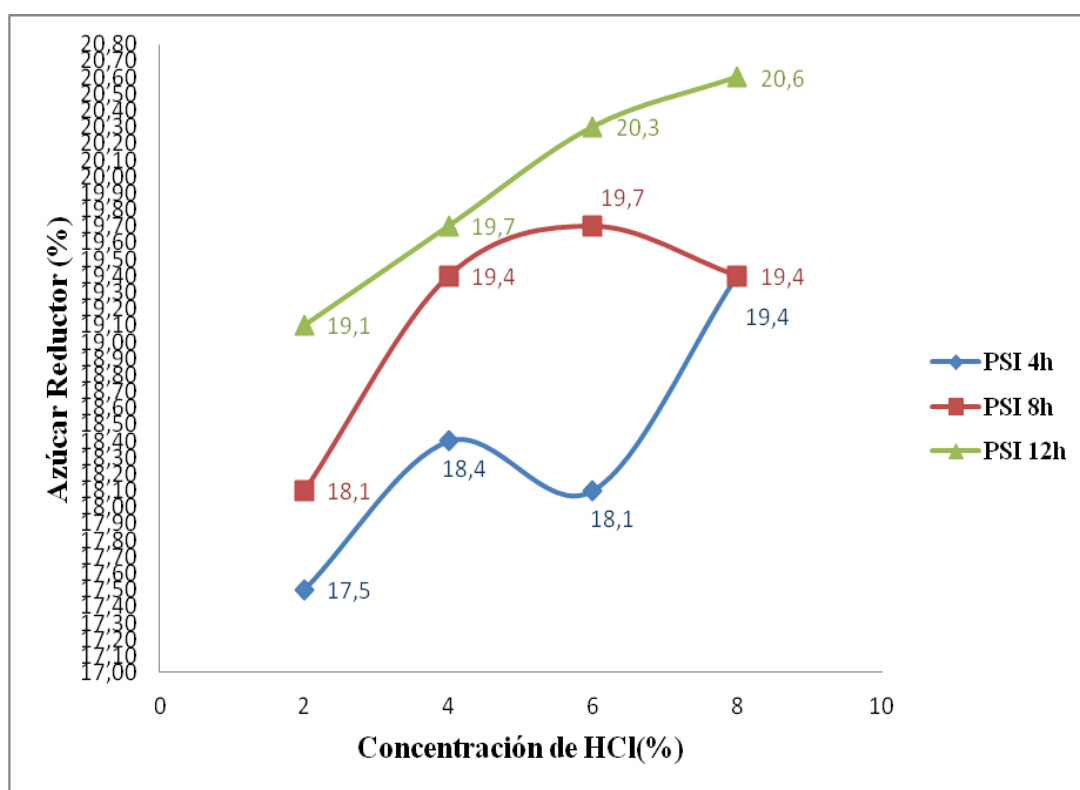


Figura 4.8. Hidrólisis de la PSI con HCl a diferentes concentraciones y tiempos.

En la tabla 4.2 se muestra todos los porcentajes de azúcares reductores de la PSI de la muestra que fue sometida a reflujo a diferentes tiempos y concentraciones del HCl se observa los porcentajes de azúcares reductores de las hidrólisis de la PSI, en donde se indica que el menor valor es de 17,5% en la hidrólisis de 4 horas con HCl al 2%, mientras que el más alto es de 20,6% de azúcar en la hidrólisis de 12 horas con HCl al 8%, en la figura 4.8 se ve las curvas obtenidas en donde los menores valores son en las hidrólisis de 4h esto se puede deber al poco tiempo expuesto el material celulósico ya que a medida que se ha aumentado el tiempo también lo ha hecho la concentración de azúcar, en las hidrólisis de 8h se puede observar que los porcentajes han subido a un 19%, mientras que las hidrólisis de 12h alcanzan hasta el 20% de azúcar reductor.

En la tabla 4.3 se detallan los porcentajes de azúcares reductores de las hidrólisis de la PCI y de la PSI realizadas con HCl a distintas concentraciones y expuestos a distintos tiempos con sus respectivas figuras 4.9, 4.10, 4.11.

Tabla 4.3 Porcentajes de azúcares reductores de las hidrólisis con PCI y PSI con HCl.

Tratamiento	%HCl	Tiempo de hidrólisis (Horas)	% AR de la PCI W=0,16	% AR de la PSI W=0,16
1	2	4	12,2	17,5
2	4	4	16,6	18,4
3	6	4	17,2	18,1
4	8	4	14,4	19,4
5	2	8	15,5	18,1
6	4	8	16,6	19,4
7	6	8	17,5	19,7
8	8	8	17,5	19,4
9	2	12	17,2	19,1
10	4	12	17,8	19,7
11	6	12	18,1	20,3
12	8	12	17,8	20,6

En la tabla 4.3 se observa los porcentajes de las hidrólisis de la PCI y PSI indicando que el mayor valor de la PCI es de 18,1% de la hidrólisis de 12 horas con HCl al 6%, mientras que para la PSI es de 20,6% de azúcar de la hidrólisis de 12 horas con HCl al 8%, se puede ver que existe una gran diferencia entre los dos tipos de paja ya que de la PSI se obtiene mayor cantidad de azúcar reductor, esto se puede ver también en la hidrólisis de 4 horas con HCl al 2% para la PCI el porcentaje de azúcar es de 12,2% y para la PSI es de 17,5% de azúcar, cabe mencionar que las dos muestras fueron sometidas a las mismas condiciones lo que indica que la PSI posee mayor cantidad de material celulósico hidrolizable a comparación de la PCI que al llegar a un determinado tiempo comienza a descomponerse el azúcar y a disminuir su concentración.

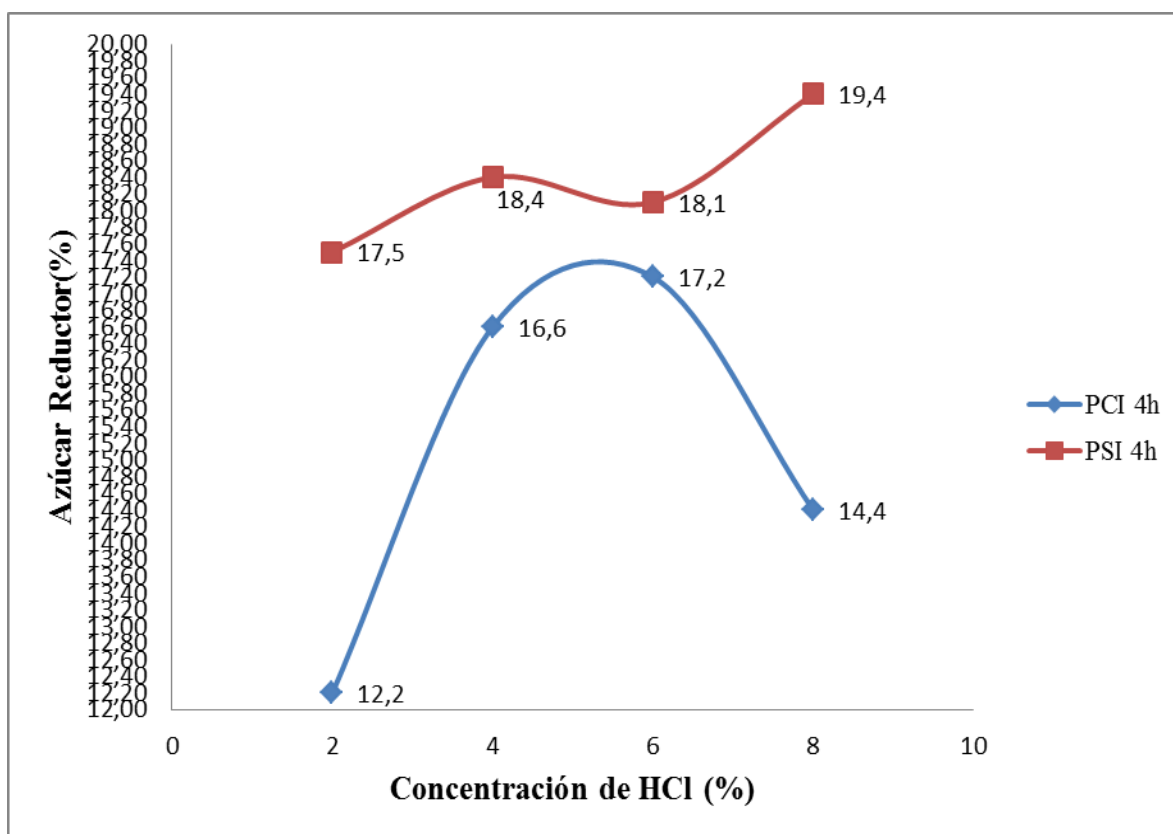


Figura 4.9. Hidrólisis de 4h de la PCI y PSI con HCl a diferentes concentraciones.

En la figura 4.9 se establece la representación gráfica del porcentaje de azúcar reductor, lo que indica que la dirección de la curva de la PCI tiende a decrecer mientras que en la PSI es todo lo contrario, para la PSI el mejor valor obtenido se da con HCl al 8% y para la PCI se obtuvo al 6% de HCl siendo de 17,2% de azúcar mientras que la otra muestra comienza su curva de 17,5%, lo que se puede ver una gran diferencia significativa entre los dos sustratos.

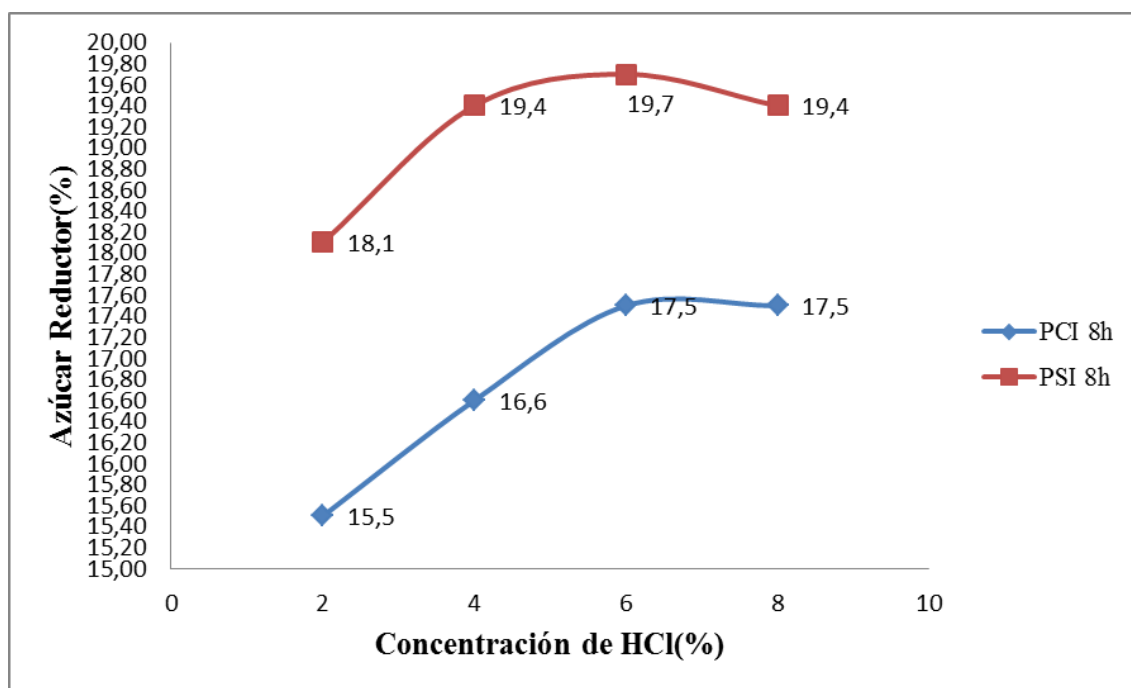


Figura 4.10. Hidrólisis de 8h de la PCI y PSI con HCl a diferentes concentraciones.

En la figura 4.10 se determina que las curvas tiende a ser muy similares en su forma, existe diferencia en los porcentajes de azúcar reductor, para la muestra PCI llega a mantener su concentración de azúcar después de la hidrólisis al 6% de HCl encontrándose en el rango del 17%, mientras que para la PSI en el 19%, determinando que al tiempo de 8 horas sería el más óptimo para la PCI ya que comienza a mantener la concentración, en cambio la PSI posee mayor cantidad de material hidrolizable ya que se logró conseguir porcentajes más altos o más aceptables que la otra muestra.

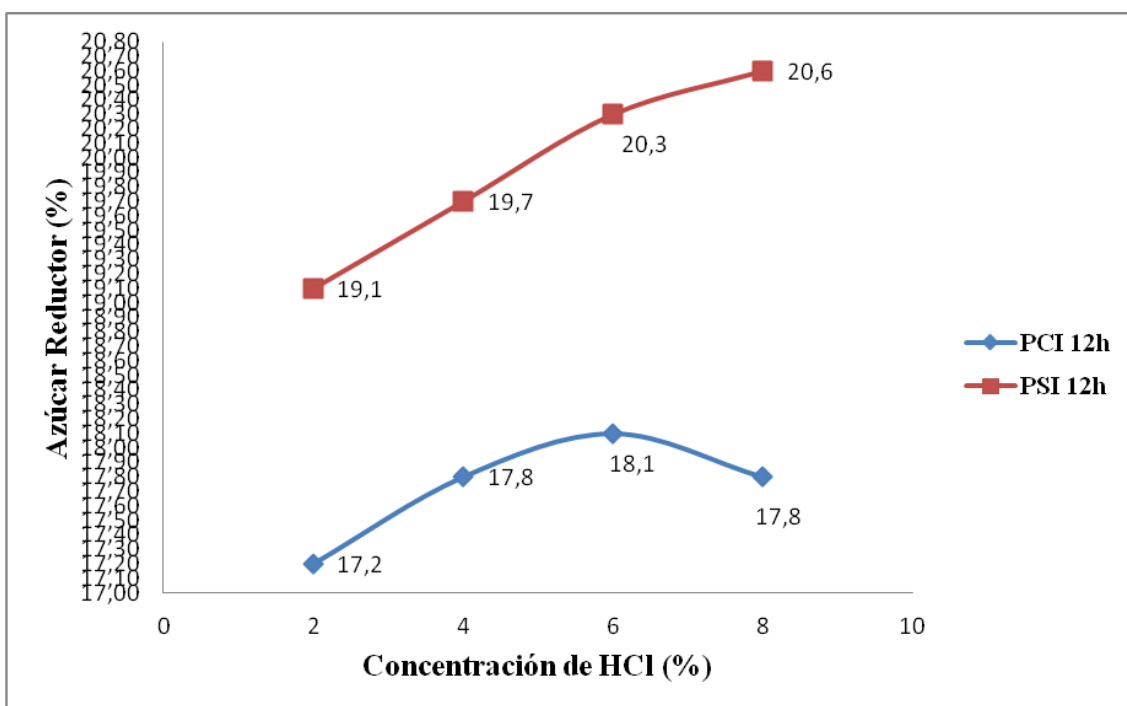


Figura 4.11. Hidrólisis de 12h de la PCI y PSI con HCl a diferentes concentraciones.

En la figura 4.11 se analizó que entre las curvas una tiende a decrecer y la otra a crecer se puede ver que la PCI al 6% de HCl se obtuvo un porcentaje de 18,1%, pero al 8% de HCl este disminuye la concentración de la azúcar formada, mientras que en la PSI se formó mayor cantidad siendo su porcentaje más alto de 20,6% con HCl al 8%, lo cual indica que esta muestras dejándola por un poco más de tiempo podría seguir formando azúcar.

4.4 Determinación de azúcares reductores de la PCI hidrolizada con H_2SO_4 :

El factor a utilizar es **F= 23,5**

4.4.1 Hidrólisis de la (PCI) al 2% de H_2SO_4 por 4h:

En la siguiente lista se muestra los volúmenes consumidos de la solución de trabajo estándar de sacarosa ($C_{12}H_{22}O_{11}$) en la hidrólisis de 4 horas con H_2SO_4 al 2%, mediante el método de Fehling.

Determinaciones	V de sacarosa (mL)
T1	19,8
T2	19,6
T3	19,8
Total	59,2
\bar{x}	19,7

$$\% AR = \frac{(23,5 - 19,7) \times 100 \times 5E - 3}{0,16}$$

$$\% AR = 11,9$$

4.4.2 Hidrólisis de la (PCI) al 4% de H₂SO₄ por 4h:

En la lista a continuación se indica los volúmenes consumidos de la solución de trabajo estándar de sacarosa de la hidrólisis de 4 horas con H₂SO₄ al 4%.

Determinaciones	V de sacarosa (mL)
T1	17,2
T2	17,7
T3	17,3
Total	52,2
\bar{x}	17,4

$$\% AR = \frac{(23,5 - 17,4) \times 100 \times 5E - 3}{0,16}$$

$$\% AR = 19,1$$

4.4.3 Hidrólisis de la (PCI) al 6% de H₂SO₄ por 4h:

En la siguiente lista se detallan los volúmenes obtenidos en la titulación de la PCI mediante el consumo de la solución de trabajo estándar de sacarosa de la hidrólisis de 4 horas al 6% de H₂SO₄.

Determinaciones	V de sacarosa (mL)
T1	17,0
T2	17,2
T3	17,1
Total	51,3
x⁻	17,1

$$\% \text{ AR} = \frac{(23,5 - 17,1) \times 100 \times 5E - 3}{0,16}$$

$$\% \text{ AR} = 20,0$$

4.4.4 Hidrólisis de la (PCI) al 8% de H₂SO₄ por 4h:

A continuación se muestra en la siguiente lista los volúmenes consumidos en la titulación de la PCI con la solución de trabajo estándar de sacarosa de la hidrólisis de 4 horas con H₂SO₄ al 8%.

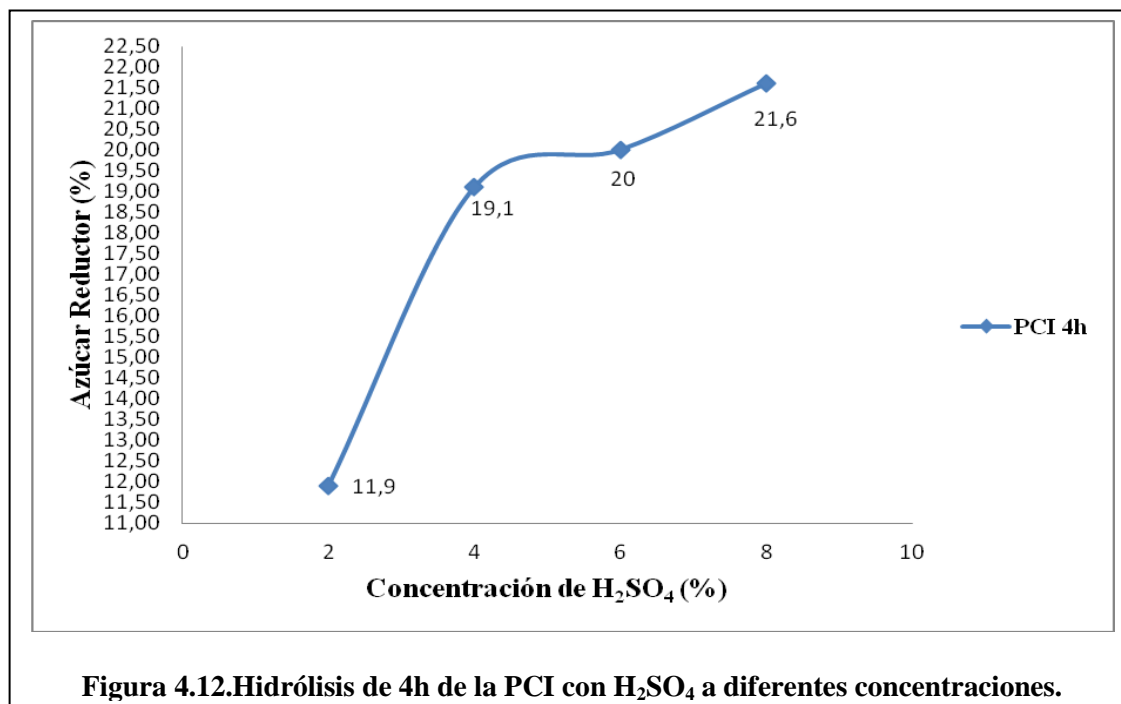
Determinaciones	V de sacarosa (mL)
T1	16,5
T2	16,6
T3	16,8
Total	49,9
x⁻	16,6

$$\% \text{ AR} = \frac{(23,5 - 16,6) \times 100 \times 5E - 3}{0,16}$$

$$\% \text{ AR} = 21,6$$

A continuación se presenta en el siguiente enlistado los porcentajes de azúcar reductor total de las hidrólisis de 4 horas con H₂SO₄, con su respectiva representación figura 4.12.

H_2SO_4 (%)	AR (%)
2	11,9
4	19,1
6	20,0
8	21,6



En la lista de porcentajes de azúcares reductores de la hidrólisis de 4 horas para la muestra PCI se observa los valores de azúcar reductor de la hidrólisis de 4h con H_2SO_4 en donde el dato más alto es de 21,6% con H_2SO_4 al 8% y el menor es de 11,9% con H_2SO_4 al 2%, en la figura 4.12 se ve la tendencia de crecimiento porcentual de la curva lo que indica que a medida que se va aumentando la concentración de ácido se obtiene mayor cantidad de azúcar.

4.4.5 Hidrólisis de la (PCI) al 2% de H_2SO_4 por 8h:

En la lista siguiente se muestra los volúmenes consumidos de la solución de trabajo estándar de sacarosa ($\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$) de la hidrólisis de 8 horas al 2% H_2SO_4 en la titulación de la PCI.

Determinaciones	V de sacarosa (mL)
T1	18,1
T2	18,2
T3	18,0
Total	54,3
\bar{x}	18,1

$$\% AR = \frac{(23,5 - 18,1) \times 100 \times 5E - 3}{0,16}$$

$$\% AR = 16,9$$

4.4.6 Hidrólisis de la (PCI) al 4% de H₂SO₄ por 8h:

A continuación se presenta en el enlistado los mililitros consumidos de la solución de trabajo estándar de sacarosa en la titulación de la PCI mediante el método de Fehling, de una hidrólisis de 8 horas al 4% H₂SO₄.

Determinaciones	V de sacarosa (mL)
T1	16,8
T2	16,9
T3	17,1
Total	50,8
\bar{x}	16,9

$$\% AR = \frac{(23,5 - 16,9) \times 100 \times 5E - 3}{0,16}$$

$$\% AR = 20,6$$

4.4.7 Hidrólisis de la (PCI) al 6% de H₂SO₄ por 8h:

A continuación se detalla en la siguiente lista los volúmenes consumidos en la titulación de la PCI con la solución de trabajo estándar de sacarosa de la hidrólisis de 8 horas al 6% H₂SO₄.

Determinaciones	V de sacarosa(mL)
T1	16,2
T2	16,5
T3	16,1
Total	48,8
\bar{x}	16,3

$$\% AR = \frac{(23,5 - 16,6) \times 100 \times 5E - 3}{0,16}$$

$$\% AR = 22,5$$

4.4.8 Hidrólisis de la (PCI) al 8% de H₂SO₄ por 8h:

En la lista siguiente se muestra los volúmenes consumidos de la solución de trabajo estándar de sacarosa en la titulación de la PCI, de la hidrólisis de 8 horas con H₂SO₄ al 8%.

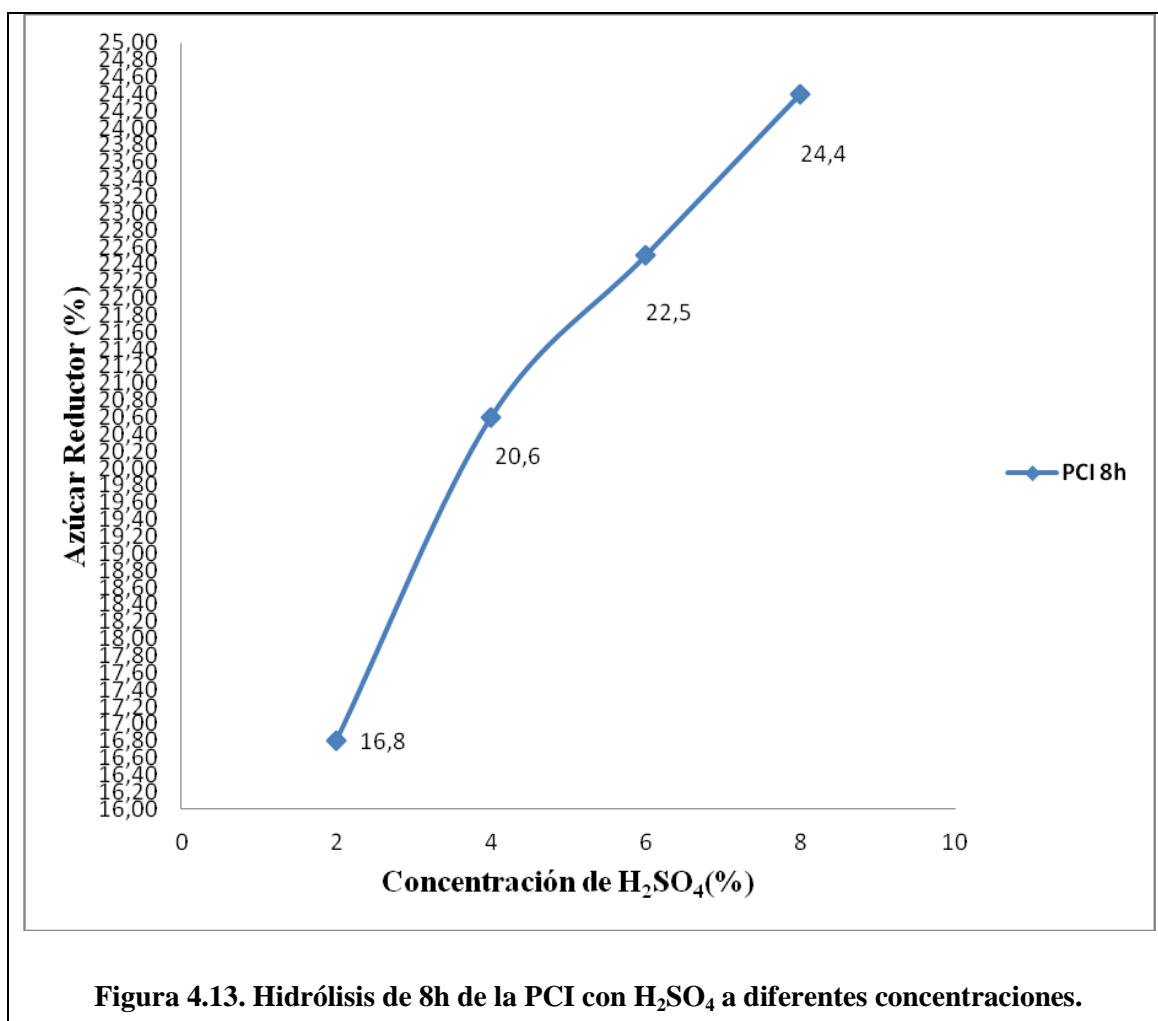
Determinaciones	V de sacarosa (mL)
T1	15,7
T2	15,8
T3	15,5
Total	47,0
\bar{x}	15,7

$$\% AR = \frac{(23,5 - 15,7) \times 100 \times 5E - 3}{0,16}$$

$$\% AR = 24,4$$

En la siguiente lista se presenta los porcentajes de azúcares reductores de las hidrólisis de 8 horas con H₂SO₄ y su respectiva figura 4.13 para la muestra PCI.

H_2SO_4 (%)	AR (%)
2	16,8
4	20,6
6	22,5
8	24,4



Se observa en la lista en la que se encuentra detallada los porcentajes de azúcares reductores de las hidrólisis de 8 horas con H_2SO_4 para la PCI en donde se indica que existe un aumento en la concentración de azúcar, se puede ver en la figura 4.13 que el menor porcentaje obtenido es de 16,8% con H_2SO_4 al 2%, mientras que a partir del 4% de H_2SO_4 se generan valores de 20,6%, 22,5%, 24,4% esta diferencia se debe a la concentración baja del ácido que no permite hidrolizar en su totalidad a todo el material celulósico, lo que indica que si se lo deja por más horas se obtendría mayor concentración de azúcar.

4.4.9 Hidrólisis de la (PCI) al 2% de H₂SO₄ por 12h:

En la lista a continuación se presenta los volúmenes consumidos de la solución de trabajo estándar de sacarosa en la titulación de la PCI de la hidrólisis de 12 horas con H₂SO₄ al 2%.

Determinaciones	V de sacarosa (mL)
-----------------	--------------------

T1	17,3
----	------

T2	17,2
----	------

T3	17,0
----	------

Total	51,5
-------	------

x ⁻	17,2
----------------	------

$$\% \text{ AR} = \frac{(23,5 - 17,2) \times 100 \times 5E - 3}{0,16}$$

$$\% \text{ AR} = 19,7$$

4.4.10 Hidrólisis de la (PCI) al 4% de H₂SO₄ por 12h:

Se presenta a continuación la siguiente lista donde se detalla los volúmenes consumidos de la solución estándar de sacarosa de la hidrólisis de 12 horas con H₂SO₄ al 4%.

Determinaciones	V de sacarosa (mL)
-----------------	--------------------

T1	16,5
----	------

T2	16,3
----	------

T3	16,2
----	------

Total	49,0
-------	------

x ⁻	16,3
----------------	------

$$\% \text{ AR} = \frac{(23,5 - 16,3) \times 100 \times 5E - 3}{0,16}$$

$$\% \text{ AR} = 22,5$$

4.4.11 Hidrólisis de la (PCI) al 6% de H₂SO₄ por 12h:

Se detalla en la siguiente lista los volúmenes obtenidos en la titulación de la PCI con la solución de trabajo estándar de sacarosa de la hidrólisis de 12 horas con H₂SO₄ al 6%.

Determinaciones	V de sacarosa (mL)
T1	15,7
T2	15,6
T3	15,4
Total	46,7
x ⁻	15,6

$$\% \text{ AR} = \frac{(23,5 - 15,6) \times 100 \times 5E - 3}{0,16}$$

$$\% \text{ AR} = 24,7$$

4.4.12 Hidrólisis de la (PCI) al 8% de H₂SO₄ por 12h:

A continuación se indica en la siguiente lista los volúmenes consumidos de la solución de trabajo estándar de sacarosa de la hidrólisis de 12 horas con H₂SO₄ al 8%.

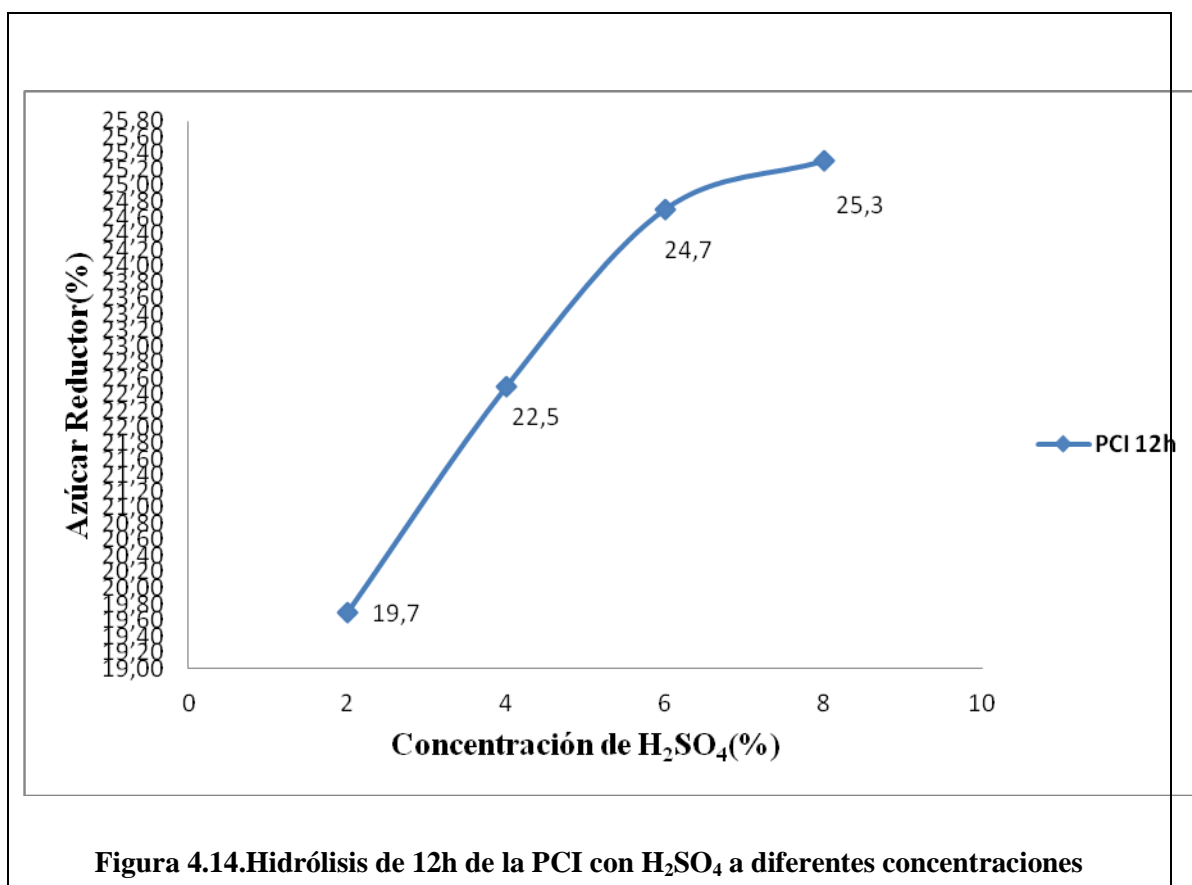
Determinaciones	V de sacarosa (mL)
T1	15,2
T2	15,5
T3	15,5
Total	46,2
x ⁻	15,4

$$\% \text{ AR} = \frac{(23,5 - 15,4) \times 100 \times 5E - 3}{0,16}$$

$$\% \text{ AR} = 25,3$$

En la siguiente lista se presenta los porcentajes de azúcares reductores de las hidrólisis de 12 horas con H₂SO₄ para la PCI con su respectiva figura 4.14.

H ₂ SO ₄ (%)	AR (%)
2	19,7
4	22,5
6	24,7
8	25,3

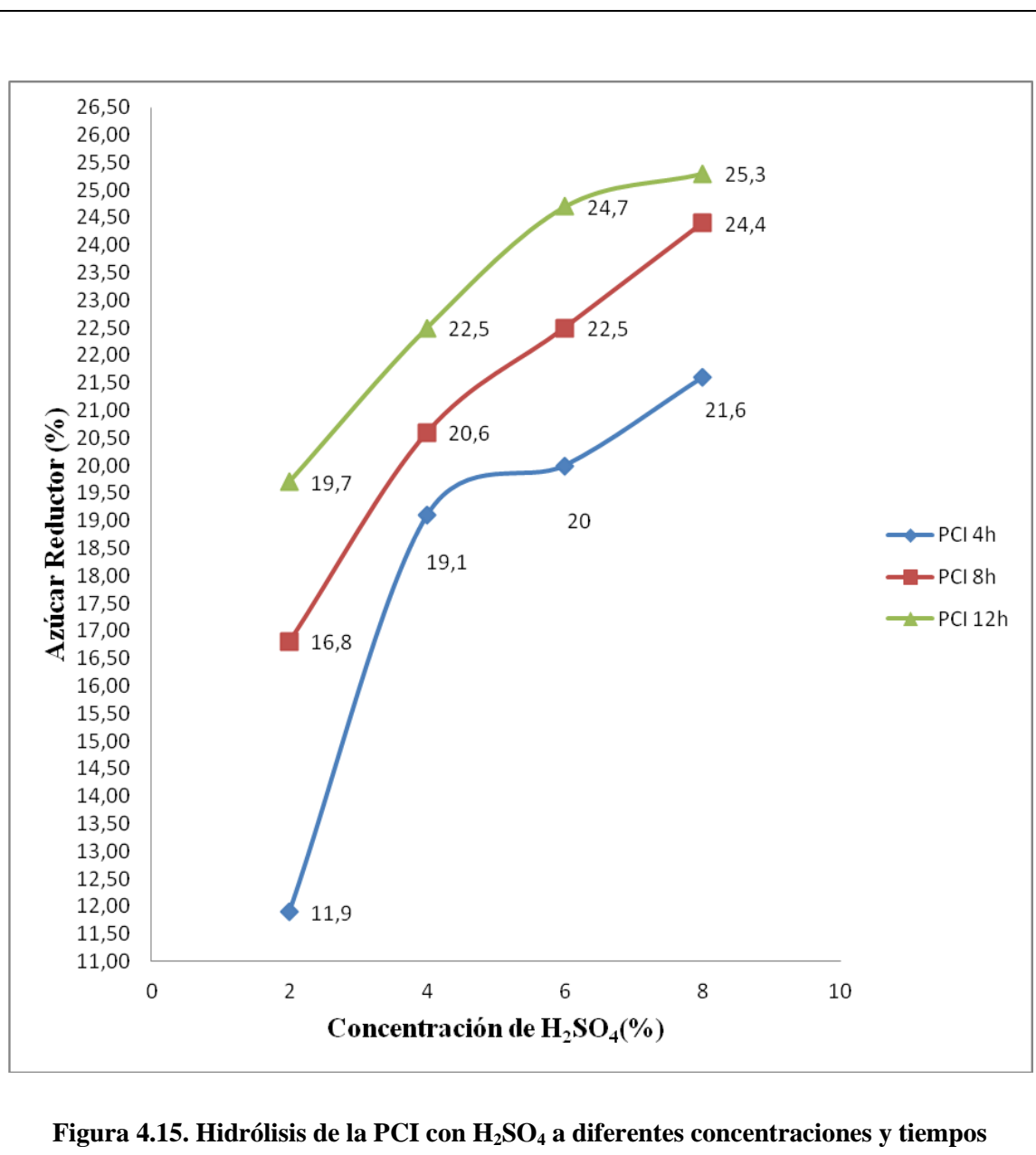


En la lista de los porcentajes de azúcares reductores de la hidrólisis de 12 horas con H₂SO₄ para muestra PCI se indica que el valor más alto es de 25,3% con H₂SO₄ al 8%, y el menor es de 19,7% con H₂SO₄ al 2%, en la figura 4.14 se ve que en la curva hay un crecimiento porcentual, pero no existe mucha diferencia entre cada dato lo que indica que cada concentración de ácido a hidrolizado cierta cantidad de material celulósico pero entre el 6% y 8% H₂SO₄, la diferencia entre estos es mínima ya que como estas concentraciones son las más altas llegan a un punto donde ya no se hidroliza más la paja y a un determinado tiempo en donde se obtiene un valor similar, claro que si se le dejara por más horas a las concentraciones de 2 y 4% de H₂SO₄ se generaría un valor alrededor del 25% de azúcar.

A continuación se detalla en la tabla 4.4 los porcentajes de azúcares reductores de las hidrólisis de 4, 8 y 12 horas de PCI con H_2SO_4 a diferentes concentraciones, la cual tiene su respectiva figura 4.15.

Tabla 4.4 Porcentajes de azúcares reductores de la PCI obtenidos de las respectivas hidrólisis con H_2SO_4

Tratamiento	% H_2SO_4	Tiempo de hidrólisis (Horas)	% AR de la PCI
			w =0,16
1	2	4	11,9
2	4	4	19,1
3	6	4	20,0
4	8	4	21,6
5	2	8	16,8
6	4	8	20,6
7	6	8	22,5
8	8	8	24,4
9	2	12	19,7
10	4	12	22,5
11	6	12	24,7
12	8	12	25,3



En la tabla 4.4 los porcentajes de azúcares reductores de las hidrólisis de 4, 8 y 12 horas de PCI con H_2SO_4 a diferentes concentraciones, se observa que los datos del 4, 6 y 8 % H_2SO_4 son similares, excepto los del 2% de H_2SO_4 , son los porcentajes más bajos esto se puede deber a la baja concentración del ácido lo que no permite que la paja se hidrolice, en la figura 4.15 se ve las líneas de tendencia de cada hidrólisis, en la de 8 y 12 horas no existe mucha diferencia esto puede ser que a las de 8 horas el material celulósico se hidrolizo en su totalidad al aumentar 4 horas más hidrolizo una mínima cantidad por lo que al determinar la concentración o el porcentaje de azúcar no hay mayor discrepancia entre los datos debido a que solo aumentó un

1%, lo que indica que si se le dejara por más tiempo disminuiría el porcentaje de azúcar ya que esta comenzaría a degradarse.

4.5 Determinación de azúcares reductores de la PSI hidrolizada con H₂SO₄:

El factor a utilizar es **F= 23,5**

4.5.1 Hidrólisis de la (PSI) al 2% de H₂SO₄ por 4h:

En la siguiente lista se muestra los volúmenes consumidos de la solución de trabajo estándar de sacarosa (C₁₂H₂₂O₁₁) en la titulación de la PSI, de la hidrólisis de 4 horas con H₂SO₄ al 2%.

Determinaciones	V de sacarosa (mL)
------------------------	---------------------------

T1	19,3
-----------	------

T2	19,5
-----------	------

T3	19,1
-----------	------

Total	57,9
--------------	-------------

x⁻	19,3
----------------------	-------------

$$\% \text{ AR} = \frac{(23,5 - 19,3) \times 100 \times 5E - 3}{0,16}$$

% AR =13,1

4.5.2Hidrólisis de la (PSI) al 4% de H₂SO₄ por 4h:

En la lista a continuación se presenta los volúmenes consumidos de la solución de trabajo estándar de sacarosa (C₁₂H₂₂O₁₁) de hidrólisis de 4 horas con H₂SO₄ al 4%.

Determinaciones	V de sacarosa (mL)
------------------------	---------------------------

T1	17,6
-----------	------

T2	17,9
-----------	------

T3	17,7
-----------	------

Total	53,2
--------------	-------------

x⁻	17,7
----------------------	-------------

$$\% \text{ AR} = \frac{(23,5 - 17,7) \times 100 \times 5E - 3}{0,16}$$

$$\% \text{ AR} = 18,1$$

4.5.3 Hidrólisis de la (PSI) al 6% de H₂SO₄ por 4h:

En la lista siguiente se detallan los volúmenes consumidos en la titulación de la PSI con la solución de trabajo estándar de sacarosa de hidrólisis de 4 horas con H₂SO₄ al 6%.

Determinaciones	V de sacarosa (mL)
T1	16,6
T2	16,9
T3	16,8
Total	50,3
x ⁻	16,8

$$\% \text{ AR} = \frac{(23,5 - 16,8) \times 100 \times 5E - 3}{0,16}$$

$$\% \text{ AR} = 20,9$$

4.5.4 Hidrólisis de la (PSI) al 8% de H₂SO₄ por 4h:

A continuación se presenta en la siguiente lista los volúmenes consumidos de la solución estándar de sacarosa de la hidrólisis de 4 horas al 8% de H₂SO₄.

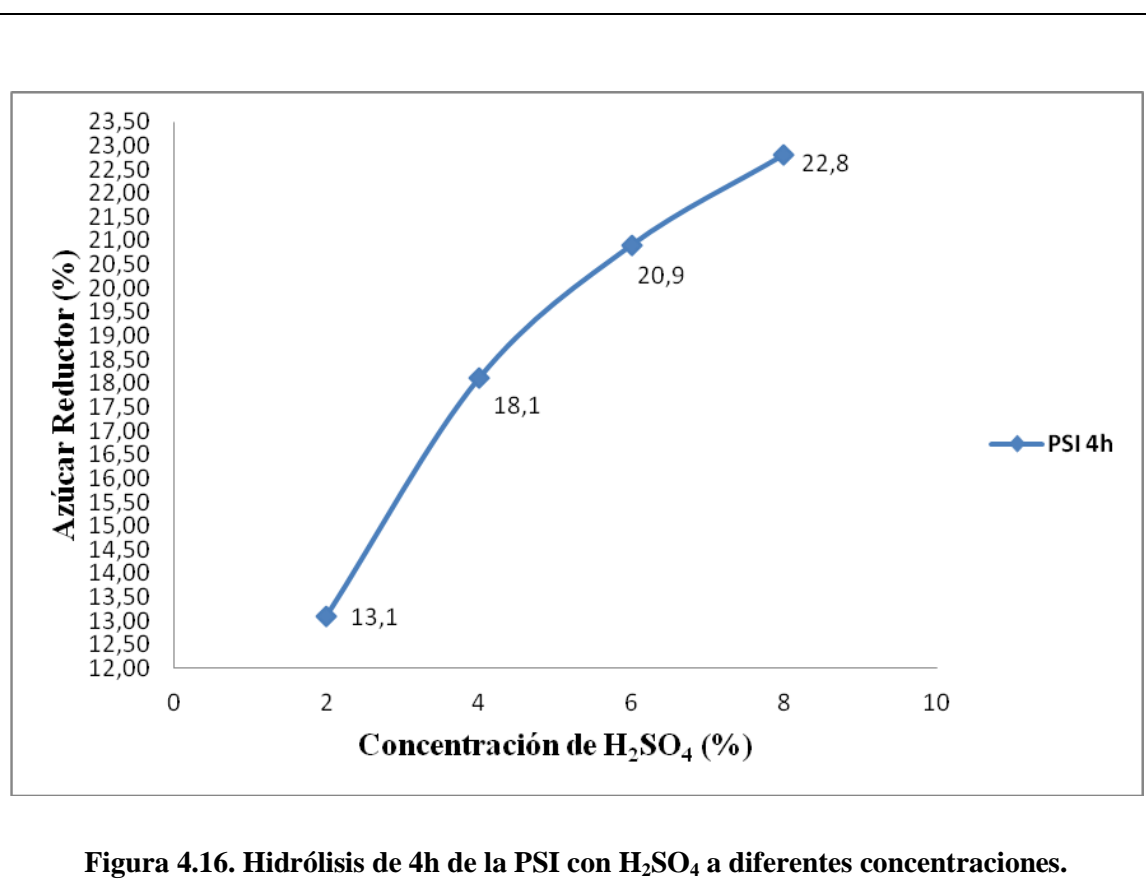
Determinaciones	V de sacarosa (mL)
T1	16,4
T2	16,1
T3	16,2
Total	48,7
x ⁻	16,2

$$\% \text{ AR} = \frac{(23,5 - 16,2) \times 100 \times 5E - 3}{0,16}$$

$$\% \text{ AR} = 22,8$$

Se presenta en la lista a continuación los porcentajes de azúcar reductor de las hidrólisis de 4 horas de la PSI con H_2SO_4 y su respectiva figura 4.16.

H_2SO_4 (%)	AR (%)
2	13,1
4	18,1
6	20,9
8	22,8



En la lista de los porcentajes de azúcar reductor de las hidrólisis de 4 horas de la PSI con H₂SO₄ se observa que el menor valor se lo obtuvo al 2% de H₂SO₄ (13,1%) y el más alto es con H₂SO₄ al 8% (22,8%), en la figura 4.16 la curva porcentual nos permite determinar que a mayor concentración de ácido se hidroliza más rápidamente el material celulósico consiguiendo más cantidad de azúcar de las hidrólisis.

4.5.5 Hidrólisis de la (PSI) al 2% de H₂SO₄ por 8h:

En la siguiente lista se indica los volúmenes consumidos de la solución estándar de sacarosa utilizados en la titulación de la PSI de la hidrólisis de 8 horas con H₂SO₄ al 2%.

Determinaciones	V de sacarosa (mL)
-----------------	--------------------

T1	17,5
----	------

T2	17,8
----	------

T3	17,6
----	------

Total	52,9
--------------	-------------

x ⁻	17,6
----------------	------

$$\% \text{ AR} = \frac{(23,5 - 17,6) \times 100 \times 5E - 3}{0,16}$$

% AR =18,4

4.5.6 Hidrólisis de la (PSI) al 4% de H₂SO₄ por 8h:

En la lista siguiente se detallan los volúmenes consumidos de la solución estándar de sacarosa utilizados en la titulación de la PSI, de la hidrólisis de 8 horas con H₂SO₄ al 4%.

Determinaciones	V de sacarosa (mL)
-----------------	--------------------

T1	16,6
----	------

T2	16,4
----	------

T3	16,5
----	------

Total	49,5
--------------	-------------

x ⁻	16,5
----------------	------

$$\% \text{ AR} = \frac{(23,5 - 17,6) \times 100 \times 5E - 3}{0,16}$$

$$\% \text{ AR} = 21,8$$

4.5.7 Hidrólisis de la (PSI) al 6% de H₂SO₄ por 8h:

En la siguiente lista se muestra los volúmenes consumidos de la solución de trabajo estándar de sacarosa utilizados en la titulación de la PSI de la hidrólisis de 8 horas con H₂SO₄ al 6%.

Determinaciones	V de sacarosa (mL)
T1	16,5
T2	16,3
T3	16,3
Total	49,1
x⁻	16,4

$$\% \text{ AR} = \frac{(23,5 - 16,4) \times 100 \times 5E - 3}{0,16}$$

$$\% \text{ AR} = 22,2$$

4.5.8 Hidrólisis de la (PSI) al 8% de H₂SO₄ por 8h:

En la lista siguiente se presenta los volúmenes obtenidos en el consumo de la solución de trabajo estándar de sacarosa en la titulación de la PSI, de la hidrólisis de 8 horas con H₂SO₄ al 8%.

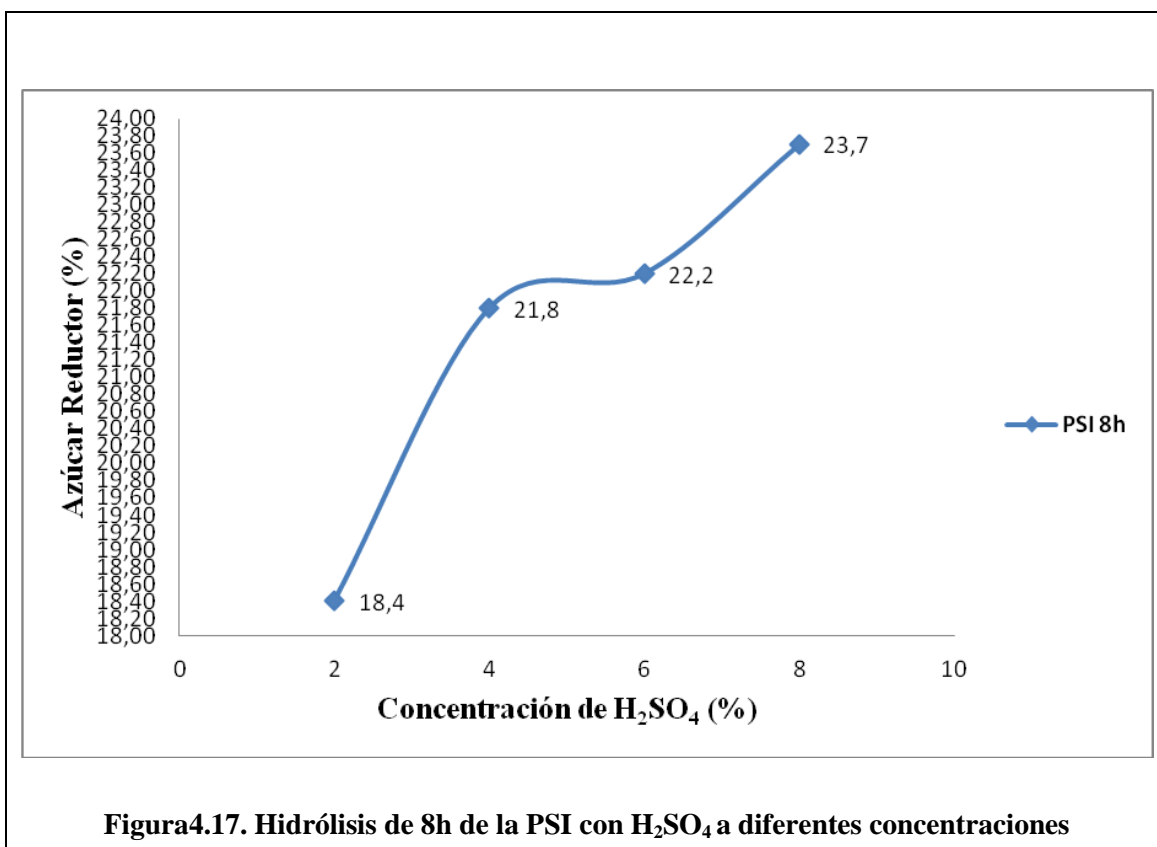
Determinaciones	V de sacarosa (mL)
T1	15,9
T2	16,0
T3	15,7
Total	47,6
x⁻	15,9

$$\% \text{ AR} = \frac{(23,5 - 15,9) \times 100 \times 5E - 3}{0,16}$$

$$\% \text{ AR} = 23,7$$

En la lista presentada a continuación se muestra los porcentajes de azúcar reductor en las hidrólisis de 8 horas de la muestra PSI con H_2SO_4 y con su figura 4.17.

H_2SO_4 (%)	AR (%)
2	18,4
4	21,8
6	22,2
8	23,7



En la lista de los porcentajes de azúcares reductores de las hidrólisis de 8 horas para la muestra PSI con H₂SO₄ se observa que el menor valor se obtuvo al 2% de H₂SO₄ (18,4%), mientras que el más alto fue con H₂SO₄ al 8% (23,7%), en la figura 4.17 se observa las concentraciones de azúcar, a partir del 4% de H₂SO₄ ha ido aumentando en un 1% lo que determina que el material celulósico se ha hidrolizado casi en su totalidad o la acción del ácido a disminuido.

4.5.9 Hidrólisis de la (PSI) al 2% de H₂SO₄ por 12h:

En la siguiente lista se indica los volúmenes obtenidos del consumo de la solución de trabajo estándar de sacarosa en la titulación de la PSI, de la hidrólisis de 12 horas con H₂SO₄ al 2%.

Determinaciones	V de sacarosa (mL)
-----------------	--------------------

T1	16,7
----	------

T2	16,6
----	------

T3	16,9
----	------

Total	50,2
-------	------

x ⁻	16,7
----------------	------

$$\% \text{ AR} = \frac{(23,5 - 15,9) \times 100 \times 5E - 3}{0,16}$$

$$\% \text{ AR} = 21,3$$

4.5.10 Hidrólisis de la (PSI) al 4% de H₂SO₄ por 12h:

En la lista a continuación se detallan los volúmenes consumidos de la solución de trabajo estándar de sacarosa en la titulación de la PSI, de la hidrólisis de 12 horas con H₂SO₄ al 4%.

Determinaciones	V de sacarosa (mL)
-----------------	--------------------

T1	16,2
----	------

T2	16,1
----	------

T3	16,4
----	------

Total	48,7
-------	------

x ⁻	16,2
----------------	------

$$\% \text{ AR} = \frac{(23,5 - 16,2) \times 100 \times 5E - 3}{0,16}$$

$$\% \text{ AR} = 22,8$$

4.5.11 Hidrólisis de la (PSI) al 6% de H₂SO₄ por 12h:

En la lista siguiente se indican los volúmenes consumidos en la titulación de la PSI con la solución de trabajo estándar de sacarosa de la hidrólisis de 12 horas con H₂SO₄ al 6%.

Determinaciones	V de sacarosa (mL)
T1	16,0
T2	16,1
T3	15,9
Total	48,0
x ⁻	16,0

$$\% \text{ AR} = \frac{(23,5 - 16,0) \times 100 \times 5E - 3}{0,16}$$

$$\% \text{ AR} = 23,4$$

4.5.12 Hidrólisis de la (PSI) al 8% de H₂SO₄ por 12h:

En la lista a continuación se presenta los volúmenes consumidos en la titulación de la PSI con la solución de trabajo estándar de sacarosa de la hidrólisis de 12 horas con H₂SO₄ al 8%.

Determinaciones	V de sacarosa (mL)
T1	15,7
T2	15,7
T3	15,8
Total	47,2
x ⁻	15,7

$$\% \text{ AR} = \frac{(23,5 - 15,7) \times 100 \times 5E - 3}{0,16}$$

$$\% \text{ AR} = 24,4$$

En la siguiente lista se presentan los porcentajes de azúcar reductor de las hidrólisis de 12 horas de la muestra PSI con H₂SO₄, con su respectiva figura 4.18.

H ₂ SO ₄ (%)	AR (%)
2	21,3
4	22,8
6	23,4
8	24,4

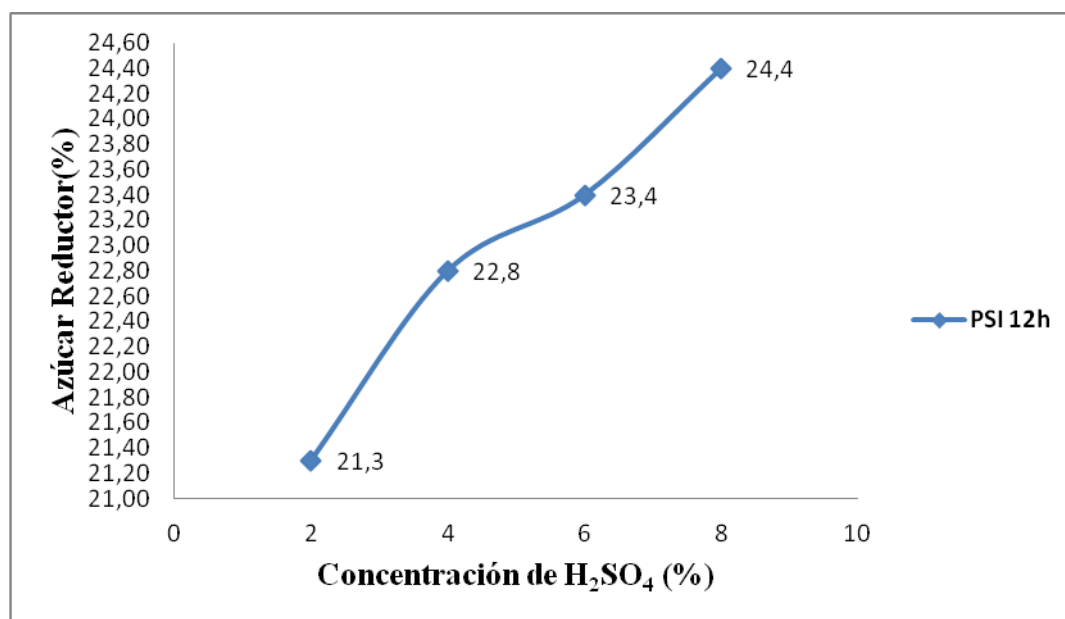


Figura4.18. Hidrólisis de 12h de la PSI con H₂SO₄ a diferentes concentraciones

En la lista de los porcentajes de azúcar reductor de las hidrólisis de 12 horas de la muestra PSI con H₂SO₄, se observa que los valores de azúcares reductores, en donde se diferencian por un 1% cada uno de los datos, en la figura 4.18 se ve la tendencia de la curva lo que indica que el material celulósico se encuentra hidrolizado en su totalidad por lo que al 6 y 8% de H₂SO₄ no hay mucha variación entre los datos, al 2% H₂SO₄ se indica que el valor es de 21,3% lo que

determina que después de 12 horas casi se a hidrolizado toda la paja a pesar de ser la concentración más baja, esto se puede deber a la estructura de la paja ya que puede que sea más fácil de romper las paredes de celulosa.

A continuación se presenta en la tabla 4.5 los porcentajes de azúcares reductores de las hidrólisis a distintos tiempos y concentraciones del H_2SO_4 a la que fue expuesta la muestra PSI, con su respectiva figura 4.19.

Tabla4.5 Porcentajes de azúcares reductores de la PSI obtenidos de las respectivas hidrólisis con H_2SO_4 .

Tratamiento	%H_2SO_4	Tiempo de hidrólisis (Horas)	% de AR de la PSI w= 0,16
1	2	4	13,1
2	4	4	18,1
3	6	4	20,9
4	8	4	22,8
5	2	8	18,4
6	4	8	21,8
7	6	8	22,2
8	8	8	23,7
9	2	12	21,3
10	4	12	22,8
11	6	12	23,4
12	8	12	24,4

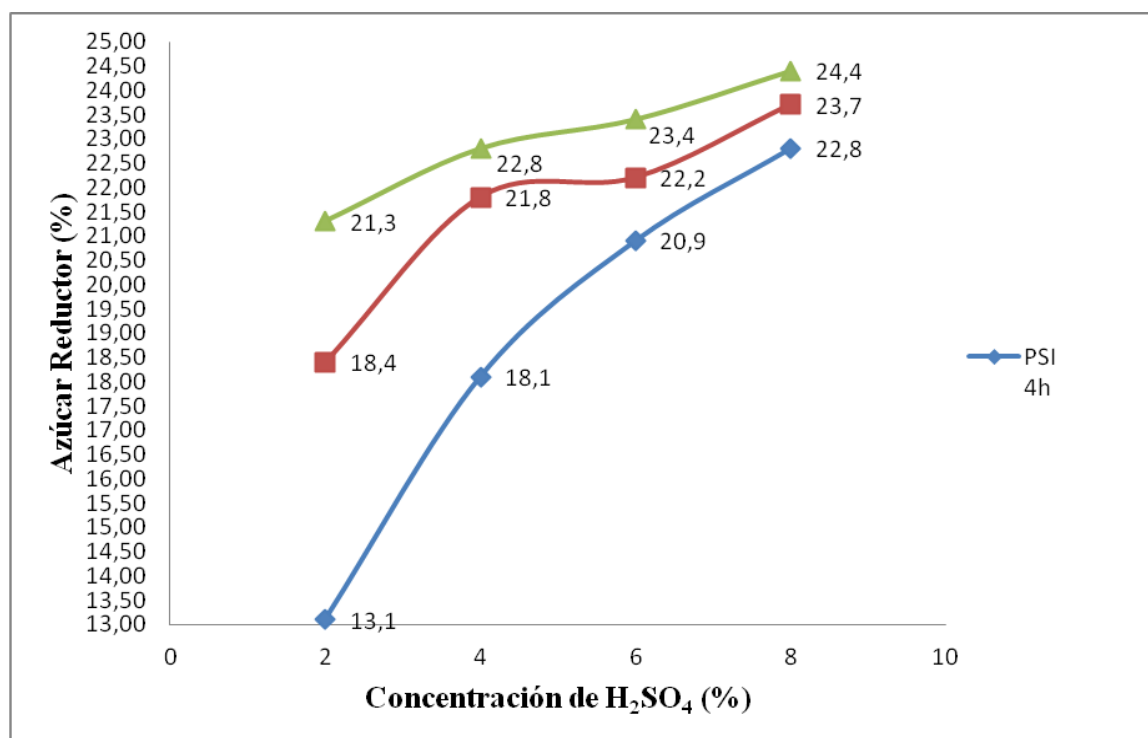


Figura 4.19. Hidrólisis de la PSI con H_2SO_4 a diferentes concentraciones y tiempos

En la tabla 4.5 se indica los porcentajes de azúcares reductores de las hidrólisis a distintos tiempos y concentraciones del H_2SO_4 , para la muestra PSI se observa que los valores más bajos se obtuvieron en la hidrólisis de 4h a diferentes concentraciones de H_2SO_4 , esto se debe al poco tiempo de exposición que tuvo la paja para ser hidrolizada, en la figura 4.19 se ve que en las hidrólisis de 8 y 12 horas los porcentajes a partir del 4% de H_2SO_4 se diferencia por un 1% de lo que indica que la paja se encuentra hidrolizada en su totalidad ya que al dejarla por 12 horas no existió más aumento en la concentración de azúcar.

A continuación se presenta en la tabla 4.6 los porcentajes de azúcar reductor de las dos muestras PCI y PSI hidrolizadas con H_2SO_4 expuestas a distintas concentraciones y a diferentes tiempos, con sus respectivas figuras 4.20, 4.21, 4.22.

Tabla 4.6 Porcentajes de azúcares reductores de las hidrólisis de la PCI y PSI con H₂SO₄

Tratamiento	%H ₂ SO ₄	Tiempo de hidrólisis (Horas)	% de AR de la PCI w= 0,16	% de AR de la PSI w= 0,16
1	2	4	11,9	13,1
2	4	4	19,1	18,1
3	6	4	20,0	20,9
4	8	4	21,6	22,8
5	2	8	16,8	18,4
6	4	8	20,6	21,8
7	6	8	22,5	22,2
8	8	8	24,4	23,7
9	2	12	19,7	21,3
10	4	12	22,5	22,8
11	6	12	24,7	23,4
12	8	12	25,3	24,4

En la tabla 4.6 se presenta los porcentajes de azúcar reductor de las dos muestras PCI y PSI hidrolizadas con H₂SO₄ expuestas a distintas concentraciones y a diferentes tiempos se observa que las concentraciones de azúcares reductores de las dos muestras PCI y PSI donde el valor más alto entre las dos pajas es de 25,3% de azúcar después de 12h de hidrólisis con H₂SO₄ al 8% (PCI) y el menor valor también corresponde a la misma muestra siendo de 11,9% (PCI) con H₂SO₄ al 2%, cabe mencionar que entre las concentraciones de azúcar no existe mucha diferencia por lo que se determinó que la experimentación está bien hecha ya que pudo existir error en la titulación pero al no haber valores tan distantes se puede confirmar que el análisis estuvo bien realizado.

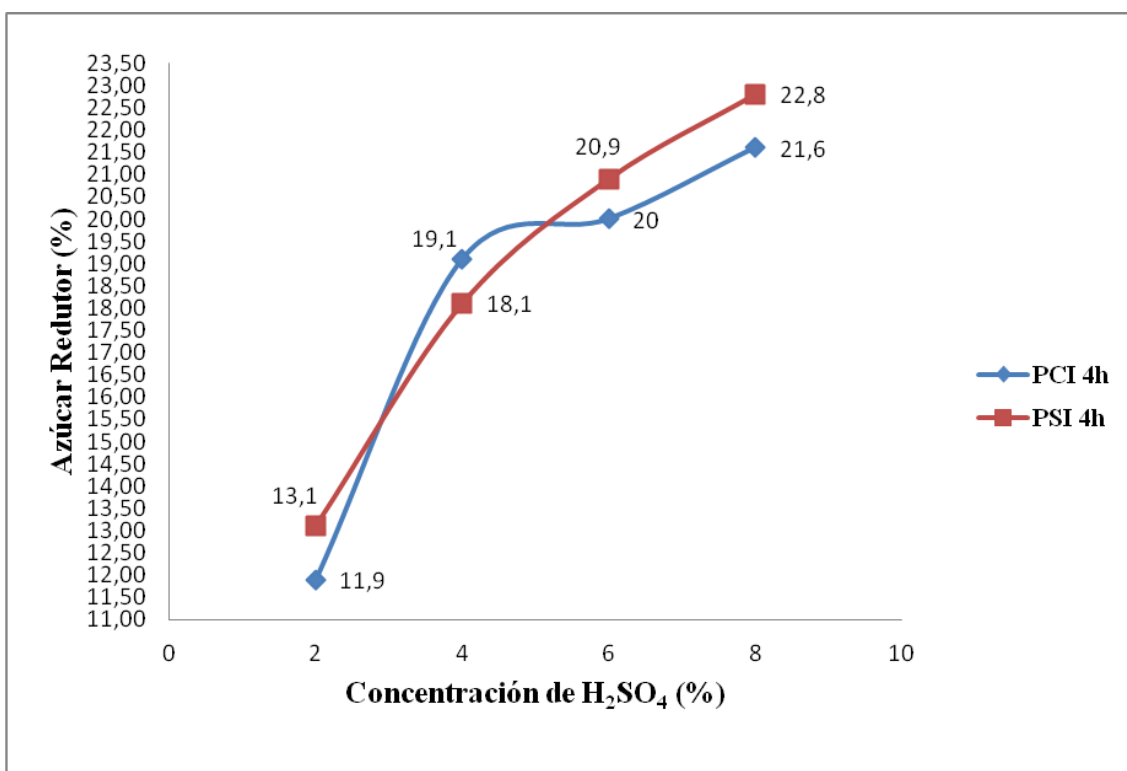


Figura4.20. Hidrólisis de 4h de la PCI y PSI con H_2SO_4 a diferentes concentraciones

En la figura 4.20 se observa las líneas de tendencia de cada una de las muestras PSI y PCI es decir que son muy similares las curvas, los porcentajes más diferentes son al 2% de H_2SO_4 para la muestra PCI siendo de 11,9% y para la PSI es de 13,1% de azúcar, al estar expuestas por 4 horas de hidrólisis no significa que haya existido error en la titulación ya que son muestras distintas, talvez depende más de la estructura celulósica de cada paja determinando que fue más fácil hidrolizar la PSI que la PCI.

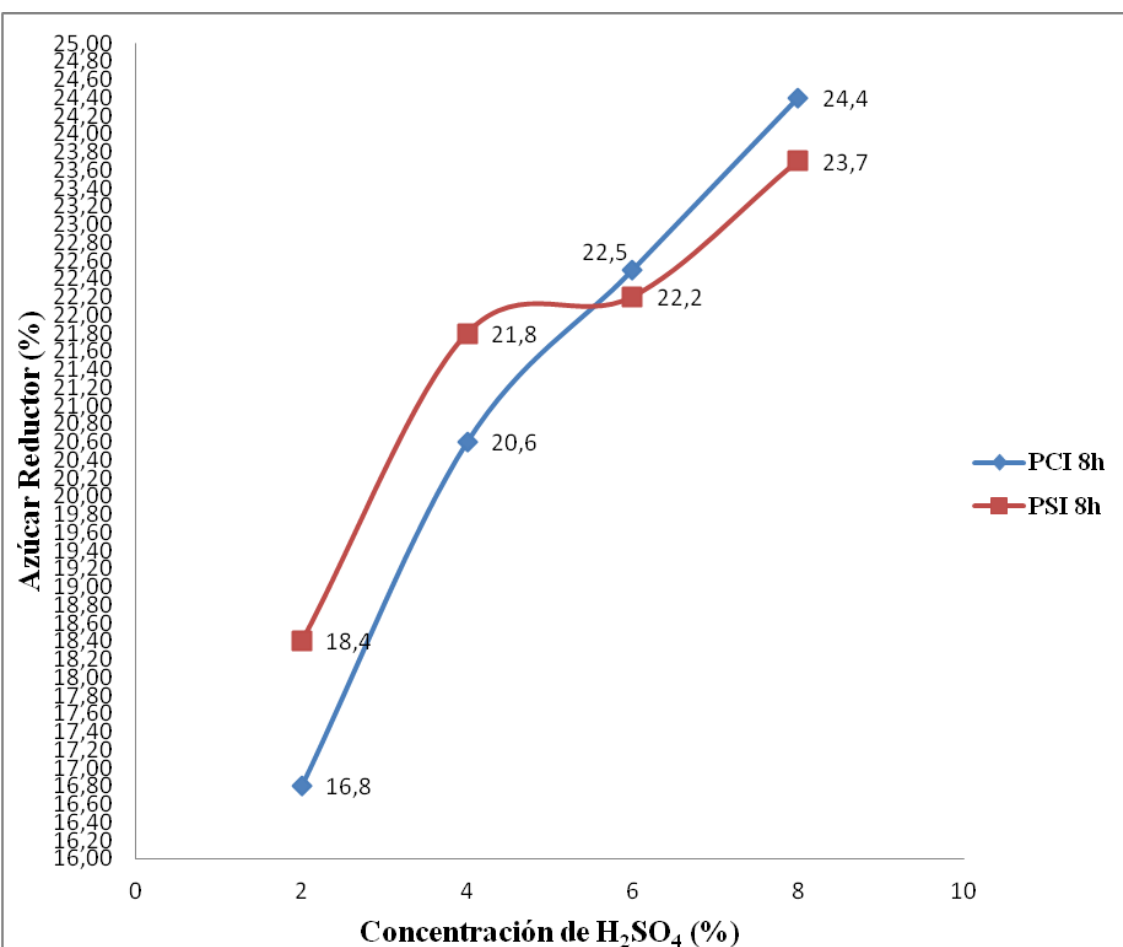


Figura 4.21. Hidrólisis de 8h de la PCI y PSI con H_2SO_4 a diferentes concentraciones.

En la figura 4.21 se observa que los porcentajes de azúcar reductor de las hidrólisis de 8 horas, entre las dos muestras PCI y PSI son valores muy próximos, lo que indica que entre las pajas poseen una similar concentración de azúcar a pesar de ser de diferentes zonas, los datos que más coinciden son al 6% de H_2SO_4 siendo para la PCI de 22,5% y para la PSI es de 22,2%, indicando que sus porcentajes son parejos, existiendo casi la misma proporciones de azúcar.

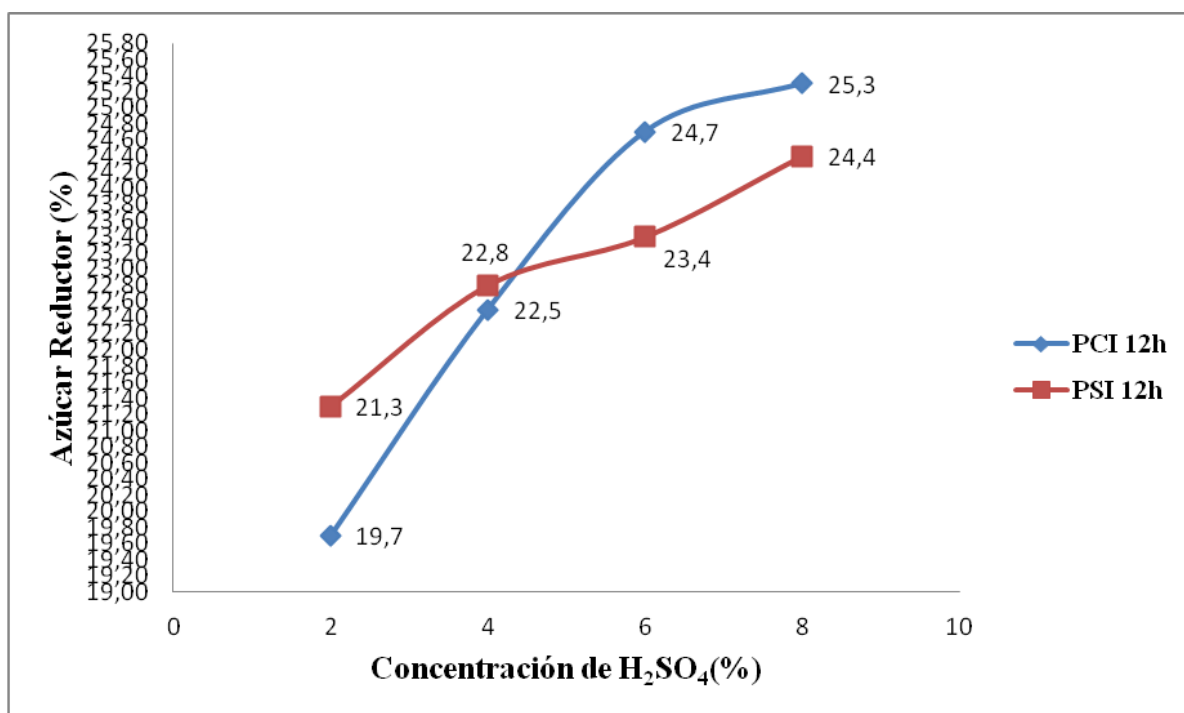


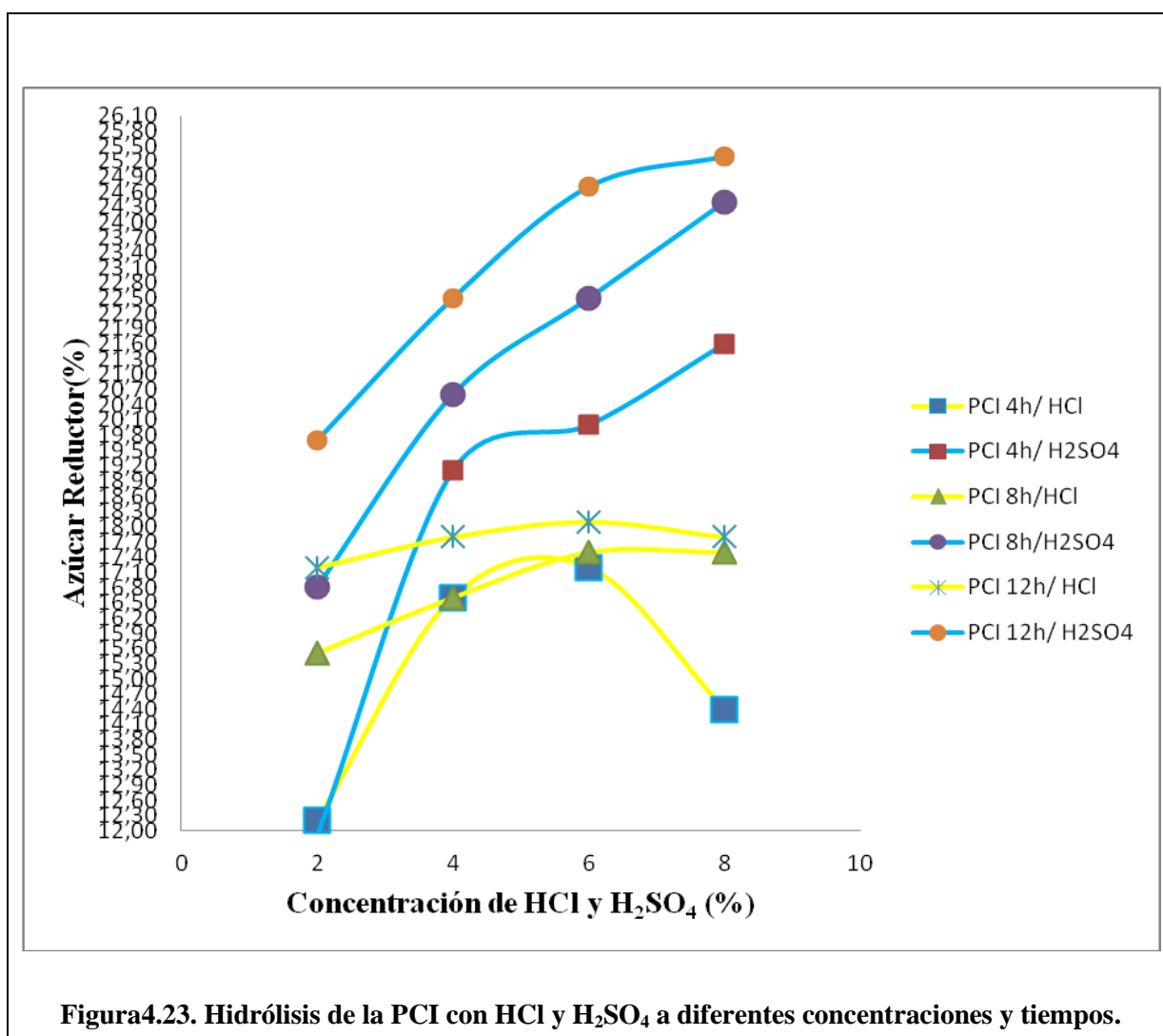
Figura4.22. Hidrólisis de 12h de la PCI y PSI con H₂SO₄ a diferentes concentraciones.

En la figura 4.22 se observa que los porcentajes de azúcar reductores son muy parejos a partir del 4% de H₂SO₄, los valores más altos en esta hidrólisis de 12 horas son para la PCI de 25,3% y para la PSI es de 24,4% lo que indica que entre las dos muestras existe casi la misma concentración de azúcar.

A continuación se presenta en la siguiente lista los porcentajes obtenidos de las dos muestras de paja PCI y PSI, con los 2 tipos de ácido a los que fueron expuestas HCl y H₂SO₄ a distintas concentraciones y a diferentes tiempos, con sus respectivas figuras 4.23, 4.24.

Tabla4.7 Porcentajes de Azúcar reductor de la PCI y PSI expuestas a HCl y H₂SO₄

Det	%HCl	%H₂SO₄	Tiempo de hidrólisis (Horas)	% AR PCI con HCl	%AR PSI con HCl	%AR PCI con H₂SO₄	%AR PSI con H₂SO₄
1	2	2	4	12,2	17,5	11,9	13,1
2	4	4	4	16,6	18,4	19,1	18,1
3	6	6	4	17,2	18,1	20,0	20,9
4	8	8	4	14,4	19,4	21,6	22,8
5	2	2	8	15,5	18,1	16,8	18,4
6	4	4	8	16,6	19,4	20,6	21,8
7	6	6	8	17,5	19,7	22,5	22,2
8	8	8	8	17,5	19,4	24,4	23,7
9	2	2	12	17,2	19,1	19,7	21,3
10	4	4	12	17,8	19,7	22,5	22,8
11	6	6	12	18,1	20,3	24,7	23,4
12	8	8	12	17,8	20,6	25,3	24,4



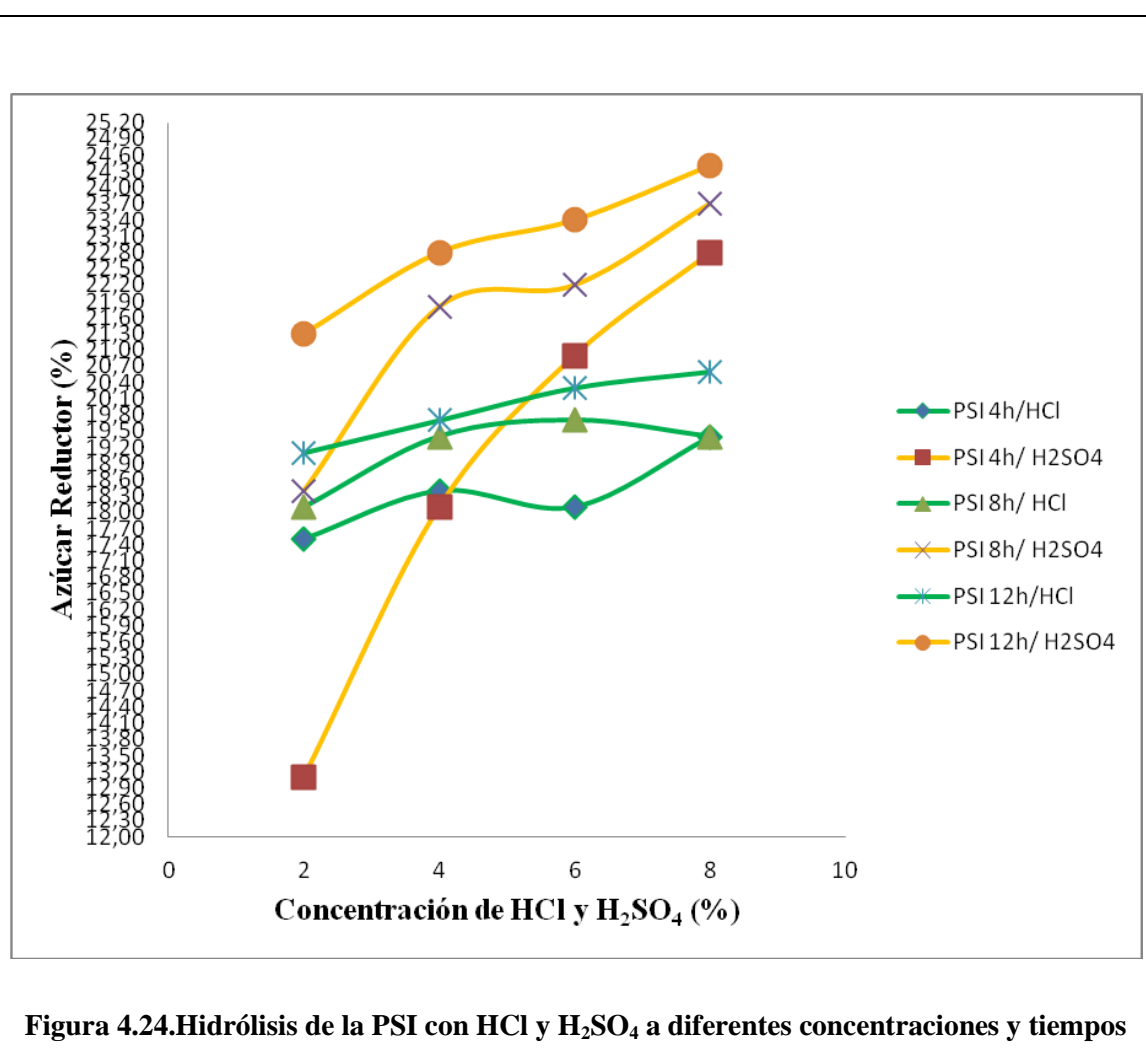
En la figura 4.23 se observan las curvas de HCl y las de H₂SO₄ en donde los porcentajes de azúcar reductores más altos se obtuvieron de las hidrólisis con H₂SO₄, indicando que existe una gran diferencia entre los datos, determinando que con este ácido se consigue una hidrólisis más eficiente que con HCl.

Se puede ver que en las hidrólisis de 4 horas las curvas con H₂SO₄ van creciendo y con HCl van decreciendo, a pesar de ser los dos ácidos fuertes esto se puede deber a que el HCl es un ácido monoprótico y su fuerza de acción disminuye más rápido.

Las hidrólisis de 8 horas permiten determinar que la muestra tratada con HCl llega a mantenerse por el mismo rango de 16-17%, lo que indica que al aumentar el tiempo se debe de hidrolizar mucho más la paja, pero en este caso no aumenta mayormente en su concentración indicando que al realizar este proceso está por finalizar la hidrólisis ya que no se llega a obtener mayor porcentaje de azúcar, en cambio se puede ver que la misma muestra expuesta con H₂SO₄ tiende

la curva a seguir aumentado el porcentaje, determinando que con el H_2SO_4 existe mayor destrucción de la PCI por esta razón sigue incrementado su concentración.

Se observa que después de 12 horas de hidrólisis la PCI obtuvo mayor concentración de azúcar mediante la hidrólisis con H_2SO_4 el porcentaje va aumentado según la concentración del ácido lo que indica que mientras más concentrado el ácido es más fácil la ruptura de la pared celulósico de la paja, en cambio la PCI hidrólizada con HCl no llega a porcentajes más del 20%, esto se puede deber a que el HCl no posee la misma fuerza de destrucción que el sulfúrico por tal motivo al determinar el porcentaje de azúcar mediante el método de Fehling este disminuye sobre todo en la concentración al 8% de HCl esto se da por que la azúcar formada comienza a degradarse y por lo tanto disminuye su porcentaje.



En la figura 4.24 se observa que la PSI hidrolizada por 4h con los diferentes ácidos, se llega a obtener mayor porcentaje de azúcar con H_2SO_4 , lo que muestra que el material celulósico no se ha hidrolizado en su totalidad, mientras que las curvas que representan los porcentajes de la paja con HCl los valores son inferiores que los que han sido expuestos con H_2SO_4 , indicando que el material celulósico no se destruye con mayor facilidad debido a que su fuerza de acción hacia la celulosa disminuye.

Se puede ver las dos líneas de tendencia de la muestra PSI hidrolizada por 8 horas indicando que con H_2SO_4 se llega a conseguir porcentajes más altos de azúcar como al 8% de H_2SO_4 (23,7%) mientras que con HCl el valor más alto es al 6% de HCl (19,7%), lo que determina que con H_2SO_4 se llega a obtener un proceso óptimo.

La hidrólisis de 12 horas con HCl se encuentra alrededor del 20% de la concentración de azúcar lo que indica que la PSI se ha hidrolizado casi en su totalidad o que la fuerza de acción del ácido para degradar la celulosa disminuye ya que en las concentraciones 6 y 8% de HCl no existe mayor variación entre los datos, en cambio la hidrólisis de la PSI con H_2SO_4 se puede ver que el porcentaje sigue aumentando en cada concentración del ácido, determinando que el material celulósico no se encuentra hidrolizado en su totalidad ya que a medida que se ha ido aumentando las horas se ha formado más azúcar.

A continuación se presenta las 2 figuras más representativas, figura 4.25 y 4.26 en donde se comparan las dos variedades de pajas (PCI y PSI), con los dos tipos de ácidos HCl y H_2SO_4 a las que fueron expuestas en la hidrólisis 8 y 12 horas.

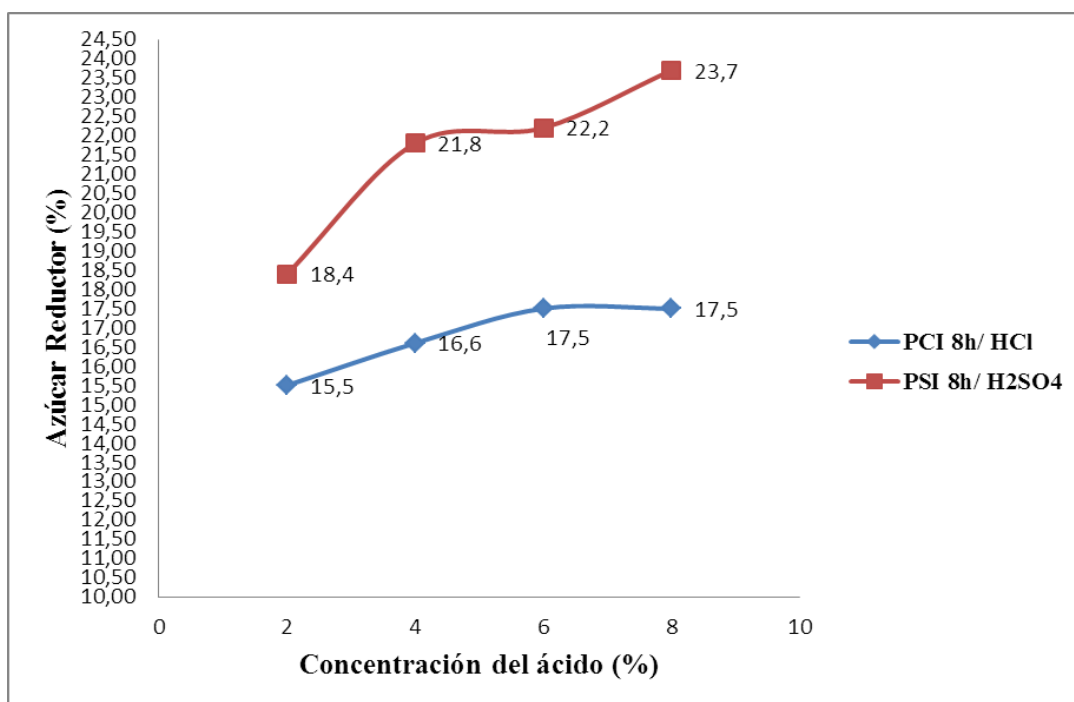


Figura4.25 .Hidrólisis de 8h de la PCI con HCl y la PSI con H₂SO₄ a diferentes concentraciones

En la figura 4.25 se ve que en la hidrólisis de 8 horas se obtuvo mayor concentración de azúcar reductor con la muestra PSI hidrolizada con H₂SO₄, a medida que se va aumentando la concentración de ácido también aumenta el porcentaje de la azúcar, mientras que para la PCI hidrolizada con HCl los valores se encuentran alrededor del 17% de azúcar reductor indicando que con el HCl no destruye con mayor rapidez la estructura celulósica por esta razón cuando termina el tiempo de hidrólisis y se determina el porcentaje de azúcar formado, este sea degradado.

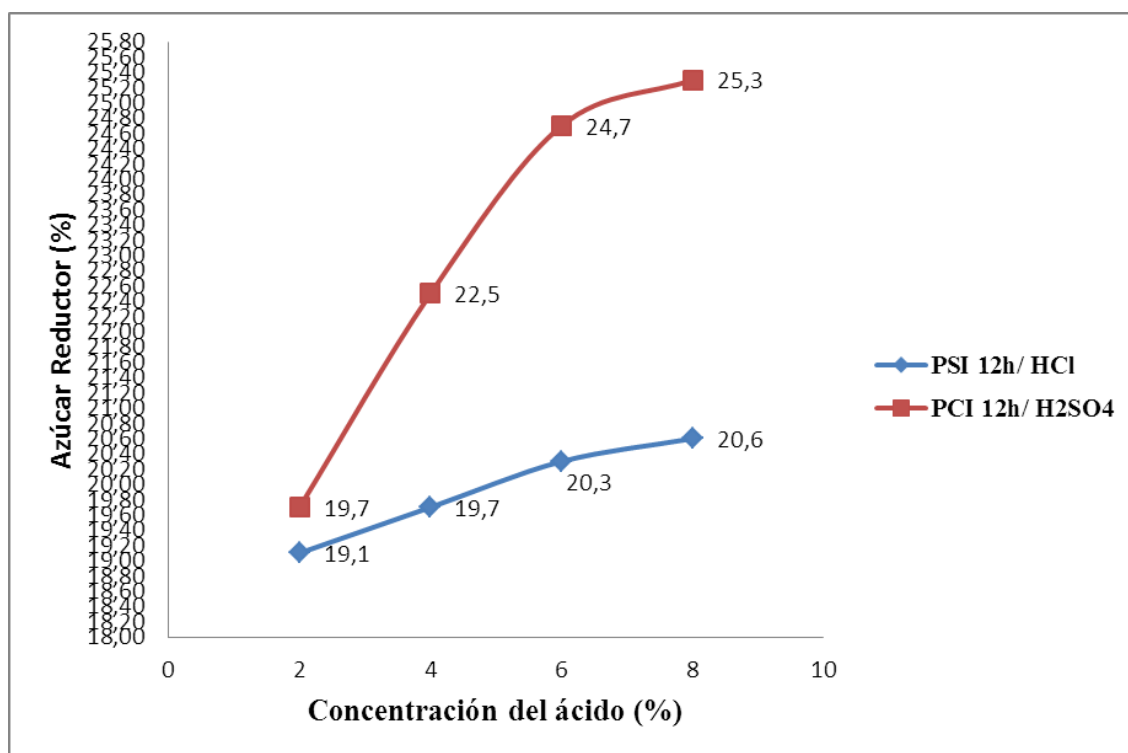


Figura4.26. Hidrólisis de 12h de la PSI con HCl y la PCI con H₂SO₄ a diferentes concentraciones

En la figura 4.26 se deduce que los porcentajes de azúcares reductores existe bastante diferencia entre los datos, para la muestra PSI hidrolizada con HCl por 12 horas el mayor valor fue al 8% de HCl siendo de 20,6% AR, mientras que para la paja PCI hidrolizada con H₂SO₄ la mayor concentración igualmente al 8% de H₂SO₄ siendo de 25,3% AR si compramos estos datos se puede decir que se obtiene un proceso óptimo con H₂SO₄.

4.6 Análisis Estadístico:

4.6.1 Análisis de varianza a 4 horas de hidrólisis:

A continuación se presenta en la tabla 4.8 el análisis de varianza realizada a las dos variedades de paja los datos obtenidos se presentan en el anexo IV.

Tabla 4.8. Análisis de varianza a 4 horas de hidrólisis

Fuente		P
Tipos de ácidos	(A)	0,000
Concentración de ácidos	(B)	0,000
Variedades de paja	(C)	0,000
Tipos de ácidos * Concentración de ácidos	(A*B)	0,000
Tipos de ácidos * Variedades de paja	(A*C)	0,000
Concentración de ácidos * Variedades de paja	(B*C)	0,000
Tipos de ácidos * concentración de ácidos * variedades de paja	(A*B*C)	0,000

Se observa en la tabla 4.8 que los valores de P son menores a 0,05 lo que indica que existe una influencia significativa entre los factores A, B,C y entre sus interacciones (A*B),(A*C),(B*C) y (A*B*C).

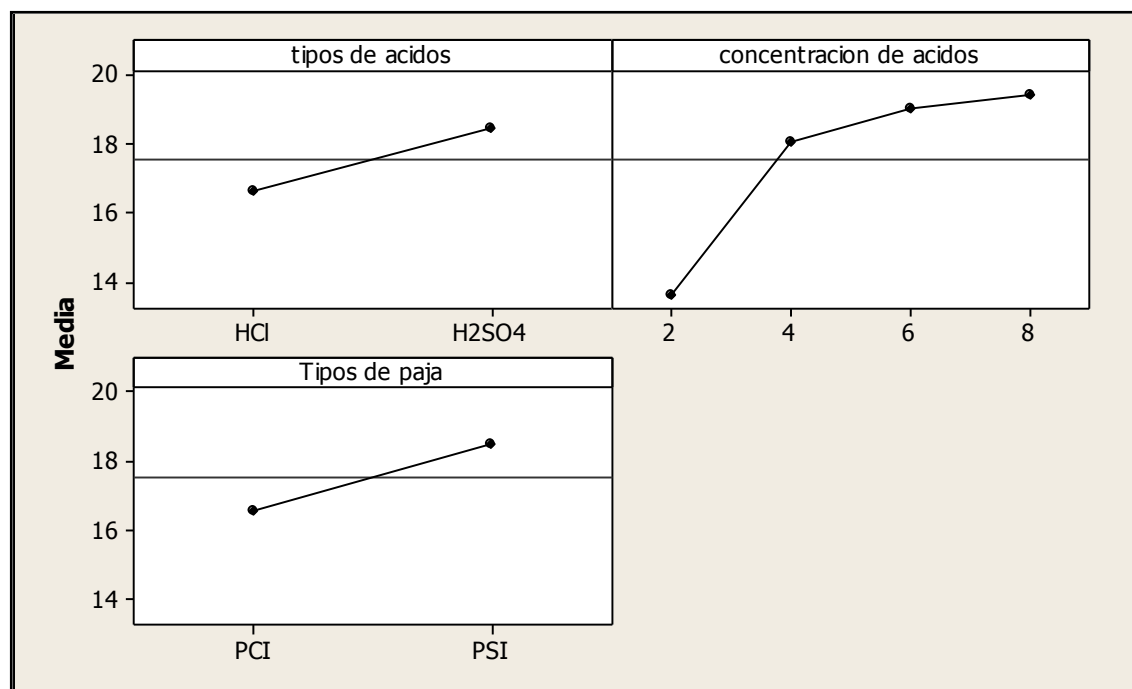


Figura 4.27. Análisis de factores hidrólisis de 4 horas.

En la figura 4.27 se observa la media de los datos en el factor tipo de ácidos se puede ver que se obtiene mayor concentración de azúcar con el H_2SO_4 a diferencia del HCl, en la concentración de ácidos se ve que a medida que se va aumentando la concentración se obtiene mayor AR, con respecto a variedades de paja se obtuvo mayor rendimiento de azúcar reductor con la PSI.

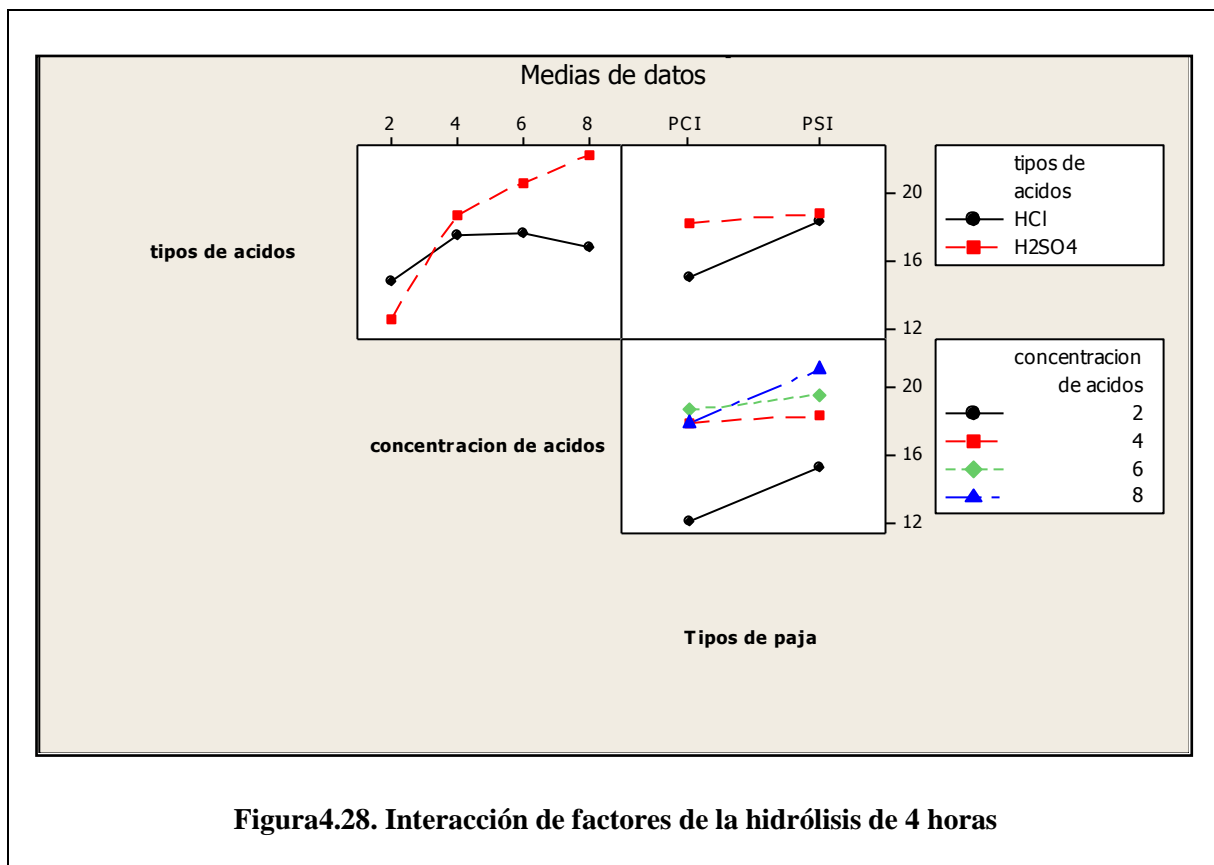


Figura4.28. Interacci3n de factores de la hidrólisis de 4 horas

En la figura 4.28 se puede ver la diferencia de la acci3n del HCl y el H_2SO_4 , se observa que con el H_2SO_4 se obtiene mayor concentraci3n de azúcar reductor que con el HCl ya que a partir del 6% de la concentraci3n del ácido la curva decrece lo que indica que se obtuvo menor porcentaje de AR a diferencia del H_2SO_4 que a medida que se aumenta la concentraci3n aumenta el rendimiento, con respecto a las variedades de pajas se obtuvo mejores resultados con la PSI con los dos tipos de ácidos, mientras que para la PCI se observa que es mejor hidrolizar con el H_2SO_4 a diferencia de los resultados conseguido con el HCl, a la concentraci3n del ácido que se debe trabajar para el HCl es mejor al 6% pero para el H_2SO_4 se obtiene un proceso optimo al 8% del ácido.

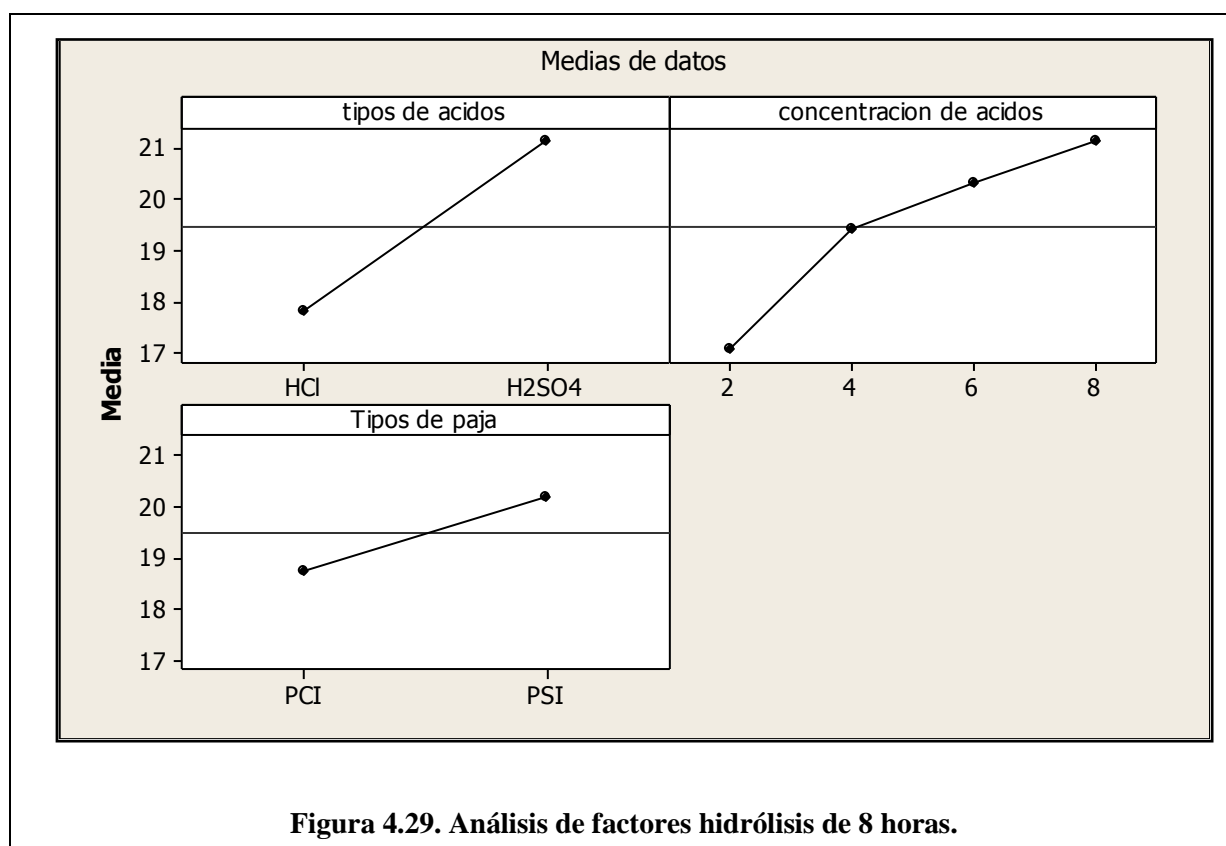
4.6.2 Análisis de varianza a 8 horas de hidrólisis:

A continuación se presenta en la tabla 4.9 el análisis de varianza realizada a las dos variedades de paja los datos obtenidos se presentan en el anexo V.

Tabla 4.9. Análisis de varianza a 8 horas de hidrólisis

Fuente		P
Tipos de ácidos	(A)	0,000
Concentración de ácidos	(B)	0,000
Variedades de paja	(C)	0,000
Tipos de ácidos * Concentración de ácidos	(A*B)	0,000
Tipos de ácidos * Variedades de paja	(A*C)	0,000
Concentración de ácidos * Variedades de paja	(B*C)	0,000
Tipos de ácidos * concentración de ácidos * variedades de paja	(A*B*C)	0,007

En la tabla 4.9 se presenta los datos obtenidos del análisis de varianza se demuestra que los valores obtenidos son menores a P 0,05 indicando que existe una influencia significativa entre sus factores (A,B,C) e interacciones (A*B),(A*C),(B*C) y (A*B*C) .



En la figura 4.29 se observa que el factor tipos de ácidos se obtiene una diferencia significativa en la acción de hidrólisis de 8 horas y por ende se confirma que con el ácido que se logra obtener mayor cantidad de azúcar reductor siendo el H_2SO_4 en relación al ácido HCl, de la misma manera se determina que a mayor concentración de estos ácidos se logra obtener más AR siendo la concentración óptima al 8%, a diferencia del 2% de concentración que se obtuvo menor porcentaje de AR, con respecto al factor tipos de pajas se obtiene mayor porcentaje de azúcar reductor con la PSI.

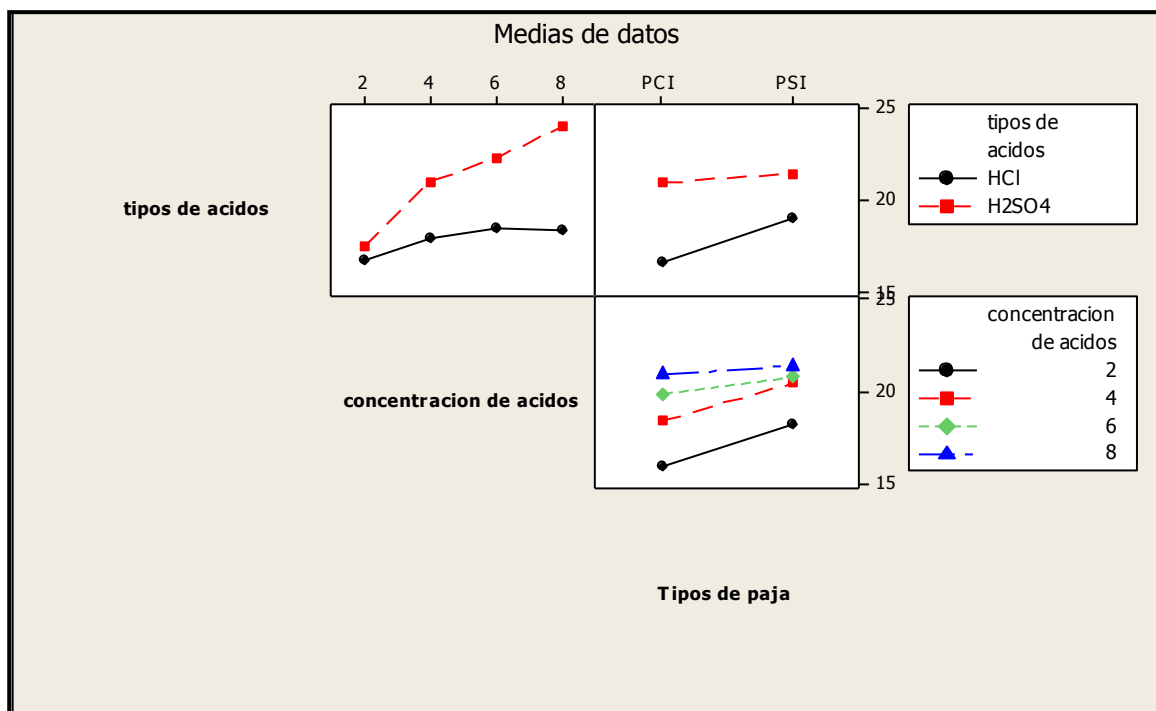


Figura 4.30. Interacción de factores de la hidrólisis de 8 horas.

En la figura 4.30 se observa la interacción de los factores en el proceso de hidrólisis de 8 horas, se ve las curvas obtenidas de los dos ácidos indicando que el ácido que es eficiente para este tipo de experimentaciones es el H_2SO_4 , se puede ver que para los dos tipos de ácidos la concentración óptima es al 8%, de la misma manera para el análisis de tipos de paja se observa que se obtiene mayor AR con el H_2SO_4 para las dos variedades de paja existiendo una diferencia significativa al comparar con la gráfica del HCl, pero con la paja PSI en acción de los dos tipos de ácidos se consigue más AR que con la PCI se obtiene porcentajes casi iguales pero en acción del H_2SO_4 .

4.6.3 Análisis de varianza a 12 horas de hidrólisis:

A continuación se presenta en la tabla 4.10 el análisis de varianza realizada a las dos variedades de paja los datos obtenidos se presentan en el anexo VI.

Tabla 4.10 Análisis de varianza a 12 horas de hidrólisis

Fuente		P
Tipos de ácidos	(A)	0,000
Concentración de ácidos	(B)	0,000
Variedades de paja	(C)	0,000
Tipos de ácidos*Concentración de ácidos	(A*B)	0,000
Tipos de ácidos * Variedades de paja (A*C)		0,000
Concentración de ácidos * Variedades de paja	(B*C)	0,000
Tipos de ácidos * concentración de ácidos * variedades de paja	(A*B*C)	0,000

En la tabla 4.10 se puede observar que los valores obtenidos de P son menores al valor de P 0,05 lo que indica que existe diferencia significativa entre factores (A,B,C) e interacciones (A*B),(A*C),(B*C) y (A*B*C) .

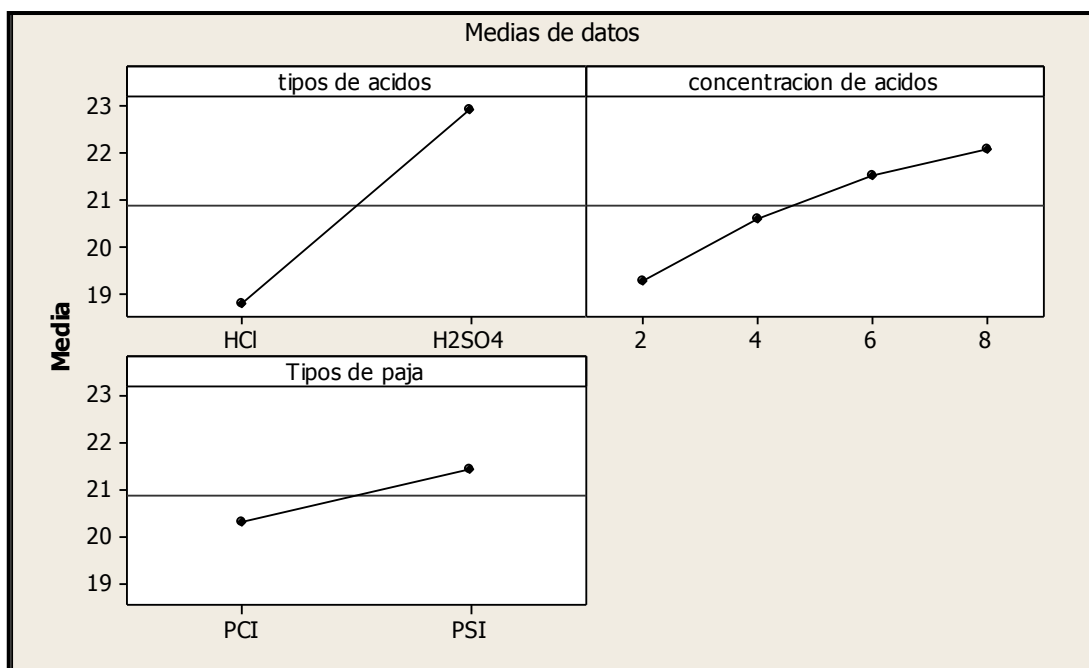


Figura 4.31. Análisis de factores hidrólisis de 8 horas.

En la figura 4.31 se puede observar de la misma manera que las otras dos experimentaciones que con el tipo de ácido que se obtiene mayor porcentaje de AR es con el H₂SO₄ existe una diferencia bastante significativa, se determina que la mejor concentración es al 8% de los ácidos y que con la paja PSI se logra mayor AR.

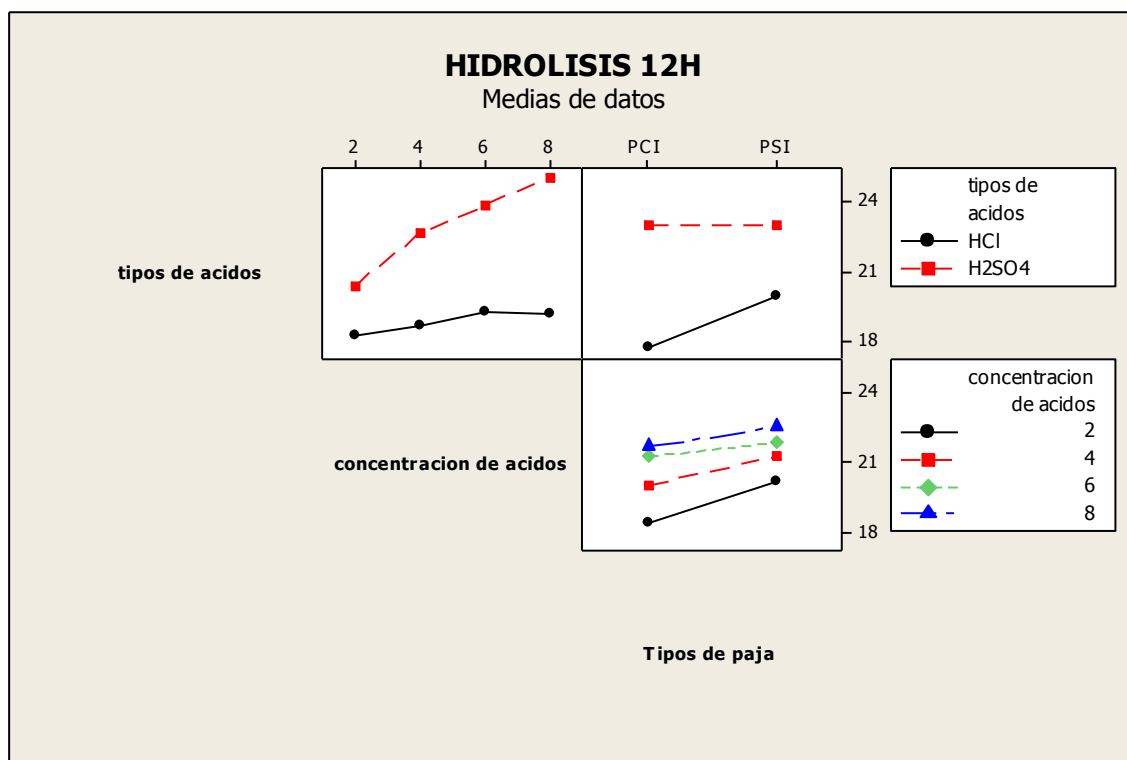


Figura 4.32. Interacción de factores de la hidrólisis de 12 horas.

En la figura 4.32 se observa la curva de los ácidos, se puede ver que con el H_2SO_4 se tiene una gráfica creciente a diferencia del HCl que la gráfica es casi lineal se puede ver que con el H_2SO_4 se tiene mayor concentración de AR a cualquier concentración a diferencia del HCl que al 6 y 8% del ácido se ve una diferencia en relación con las otras concentraciones, también se puede ver que para las dos variedades de paja se obtiene mayor AR con la PCI con el H_2SO_4 se observa una gran diferencia con el HCl, en cambio con la PSI se obtiene una menor cantidad de AR siendo muy poca la diferencia con la PCI y en acción del HCl se logró obtener más AR que con la PCI, para el proceso de hidrólisis la concentración óptima es al 8% para los dos ácidos.

CAPITULO V

5.0 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES:

5.1 Conclusiones:

- Se determinó mediante la experimentación que es factible obtener azúcares reductores mediante el proceso de hidrólisis ácida con HCl y H₂SO₄ a las dos variedades de pajas, *Calamagrostis intermedia* y *Stipa ichu*, se obtuvo diferentes valores de azúcar dependiendo de los tiempos de hidrólisis y la concentración de los ácidos.
- En las hidrólisis realizadas con HCl se observó que para la muestra PCI, el mayor porcentaje de AR es del 20,6% al 8% del ácido y 12 horas de reflujo. En cambio, para la muestra PSI, el mayor porcentaje de AR es de 18,1% al 6% del ácido y 12 horas de reflujo.
- En las hidrólisis realizadas con H₂SO₄ se determinó que los porcentajes de azúcar de las dos muestras tienen una ligera diferencia entre cada uno de ellos, esto se da desde la hidrólisis de 4 horas hasta la de 12 horas, de la misma forma desde la concentración más baja siendo la de 2% de H₂SO₄ hasta la del 8% H₂SO₄, si tomamos como referencia al valor más alto de cada una de las pajas entonces se establece que con la PCI al 8% de H₂SO₄ mediante una hidrólisis de 12 horas se obtuvo una concentración de azúcar de 25,3%, mientras que para la PSI con las mismas condiciones que la muestra anterior es de 24,4% de azúcar reductor, determinando que se consigue una mayor concentración de azúcares con la PCI a estas condiciones a pesar de ser las diferencias mínimas.
- Se determina que con la paja que se pudo obtener mayor concentración de azúcar reductor en los tres procesos de hidrólisis a diferentes tiempos es con la PSI a diferencia de PCI que solo se obtuvo un mejor rendimiento al ser sometida a 12 horas de reflujo, se puede observar en las gráficas que a pesar de no tener mucha variación en los datos obtenidos se consiguió mayor rendimiento con la *Paja Stipa Ichu*.
- Al realizar las hidrólisis con HCl y H₂SO₄ para las dos variedades de pajas se obtiene un mejor rendimiento y un proces óptimo con una concentración al 8% del ácido, mediante un período de exposición de 12 horas de reflujo.
- Se concluye que al realizar las hidrólisis acidas a las dos variedades de pajas con HCl y H₂SO₄ se obtiene una mayor concentración de azúcar con H₂SO₄ permitiendo obtener un proceso eficiente en la obtención de AR.

5.2 Recomendaciones:

- Realizar estudios de fermentación de los azúcares reductores con el propósito de obtener etanol a partir de este material celulósico.
- Que se realicen estudios aplicando otras técnicas para degradar residuos celulósicos y de esta manera conseguir porcentajes más altos de azúcares reductores.

BIBLIOGRAFÍA

1. Anette, A. B. (15 de marzo de 1999). *Optimisation of pre-treatment process and characterisation of products. Vol 49*. Recuperado el 20 de julio de 2012, de Risø National Laboratory, Roskilde:
http://orbit.dtu.dk/fedora/objects/orbit:88034/datastreams/file_7729741/content
2. Albán, S., & Burbano, A. (11 de Junio de 2002). *El manejo comunitario en los páramos*. Recuperado el 9 de Enero de 2013, de Ecociencia:
http://www.ecociencia.org/archivos/paramo_GTP11-091128.pdf
3. Arguello, A. M. (2004). *Análisis de los impactos sociales y económicos de los proyectos de fijación del carbono en el Ecuador*. Quito: Profafor Face.
4. Balslev, H. & Luteyn, J. (1992). *An And Ecosystem under human influence*. Londres: Academyc Press.
5. Belitz, H; Grosch, W. (2004). *Química de Alimentos*. Zaragoza: Acribia.
6. Bernal, C. (2006). *Metodología de la investigación*. México: Pearson Education.
7. CESA. (19 de Agosto de 1991). *Usos Tradicionales de las especies forestales nativas del Ecuador*. Recuperado el 10 de febrero de 2012, de Asocam:
http://www.asocam.org/portal/sites/default/files/publicaciones/archivos/ECES_Usos_Especies_Nativas_completo.pdf
8. Clark John. (2002). *Bioquímica Experimental*. Zaragoza: Acribia.
9. Cobo, F. (2001). La ganadería vacuna y caballar en los páramos. *Serie Páramos*, de Ecociencia, http://www.ecociencia.org/archivos/paramo_GTP08-091128.pdf
10. Davies, D., & Giovanelli, J. (1994). *Bioquímica Vegetal*. London: Omega.
11. Gerrit, D; Charter A; Chiang, F. (1994). *Flora Mesoamericana (Vol1)*. México: The Natural History London.
12. Ossa, Federico. (1 de julio de 2012). *Cultivos energeticos para biocombustible*. Recuperado el 21 de Noviembre de 2012, de UNCUIYO:
<http://www.imd.uncu.edu.ar/upload/cultivos-energeticos-final.pdf>
13. Hofstede, R., Segarra, P., & Mena, P. (2003). *Los páramos del mundo, Proyecto Atlas Mundial de los Páramos*. Obtenido de Ecociencia:
http://www.condesan.org/apc-aa-files/c6924e7390318016d869182e0da9470c/Introduccion_Paramos_mundo.pdf
14. Klemm, D. (3 de mayo de 2005). *Cellulose:Fascinating biopolymer*. Recuperado el 13 de septiembre de 2012, de Angewandte Chemie: www.wiley-vch.de/books/.../bp016010_275_287.pdf

15. Luteyn, J. (1999). A checklist of plant diversity, geographic distribution and botanical literature. *Botanical Garden (Vol 84)* , Paramo Ecosystem 1-278.
16. Mc Queen, J; Van Soest, P. (1975). (30 de Octubre de 1975). *Fungal cellulase and hemicellulase prediction of forage digestibility*. Recuperado el 12 de agosto de 2012, de Journal of dairy science: www.sciencedirect.com
17. Medina, G. P. (2001). *Los páramos del Ecuador*. Quito: Letra Sabia.
18. Medve, J; Karrison, J. (1998). Hydrolisis of microcrystalline cellulose by cellobiohydrolase and endoglucanasa from *Trichoderma reesei* adsorption sugar production pattern. *Biotechnology Bioengineering*, (Vol 59)621-626. Finland: Elsevier.
19. Mena, P. M. (2001). *Los páramos del Ecuador. Proyecto Páramo*. Quito: Letra Sabia.
20. Murray, R; Granner, D. (2007). *Bioquímica de Harper 17^{va} edición* México: México.
21. Raymond, C. (2003). *Química General*. México: McGraw-Hill.
22. William, M. (2000). *A la probabilidad Estadística*. Zaragoza: Acribia.
23. Yáñez, L. (1993). *Estudio ecológico y fitogeográfico de la vegetación del páramo de Guamaní*. Pichincha-Napo: AbyaYala .
24. Yáñez, L. (2000). *La flora de los páramos ecuatorianos*. Quito: Abya Yala.

ANEXOS

ANEXO I: Identificación Taxonómica de dos variedades de paja



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS
INSTITUTO DE INVESTIGACION SUPERIOR

Solicitud: Identificación taxonómica de dos plantas.

Solicitante: Señorita: Mayra Barreno

Fecha de solicitud: 23 de marzo de 2010

Fecha de entrega: 26 de marzo de 2010

Familia: POACEAE

Especie: *Calamagrostis intermedia* (L. Presl.) Steud.

Nombre Común: Pasto

Familia: POACEAE

Especie: *Stipa ichu* (Ruiz & Pav.) Kunth

Nombre Común: "Pasto"

Dra. Consuelo Montalvo A.
INVESTIGADORA

ANEXOII

Fotografías sobre la recolección de las dos variedades de pajas Calamagrostis intermedia y Stipa ichu.



Calamagrostis intermedia zona del Cotopaxi



Stipa ichu de la zona el arenal del Chimborazo

ANEXOIII

Fotografías sobre la experimentación realizada en el Centro de Química laboratorio 1-2.



Hidrólisis ácida de la paja



Residuo de paja Hidrolizada después de la filtración al vacío



Solución hidrolizada de paja



Modificación de pH de la solución



Solución de Azúcar reductor listas para el análisis



Determinación del porcentaje de Azúcar

ANEXO IV

Tabla de datos de análisis de varianza a 4 horas de hidrólisis.

Hidrólisis de 4 horas								
Concentración del ácido	PCI				PSI			
	HCl		H ₂ SO ₄		HCl		H ₂ SO ₄	
	% AR(1)	%AR(2)	% AR(1)	%AR(2)	% AR(1)	%AR(2)	% AR(1)	%AR(2)
2%	12,2	12,6	11,9	12,3	17,5	18,0	13,1	13,7
4%	16,6	17,1	19,1	20,1	18,4	18,2	18,1	18,7
6%	17,2	17,5	20,0	20,2	18,1	18,8	20,9	20,3
8%	14,4	14,9	21,6	22,0	19,4	20,0	22,8	22,1

ANEXO V

Tabla de datos de análisis de varianza a 8 horas de hidrólisis.

Hidrólisis de 8 horas								
Concentración del ácido	PCI				PSI			
	HCl		H ₂ SO ₄		HCl		H ₂ SO ₄	
	% AR(1)	%AR(2)	% AR(1)	%AR(2)	% AR(1)	%AR(2)	% AR(1)	%AR(2)
2%	15,5	16,0	16,8	17,2	18,1	18,4	18,4	18,9
4%	16,6	17,1	20,6	20,8	19,4	19,8	21,8	22,1
6%	17,5	18,0	22,5	22,9	19,7	20	22,2	22,7
8%	17,5	16,9	24,4	24,7	19,4	19,3	23,7	23,2

ANEXO VI

Tabla de datos de análisis de varianza a 12 horas de hidrólisis.

Hidrólisis de 12 horas								
Concetración del ácido	PCI				PSI			
	HCl		H ₂ SO ₄		HCl		H ₂ SO ₄	
	% AR(1)	%AR(2)	% AR(1)	%AR(2)	% AR(1)	%AR(2)	% AR(1)	%AR(2)
2%	17,2	17,6	19,7	20,1	19,1	19,3	21,3	21,6
4%	17,8	18	22,5	22,2	19,7	19,2	22,8	22,3
6%	18,1	17,9	24,7	24,0	20,3	20,9	23,4	23,1
8%	17,8	17,6	25,3	25,7	20,6	20,1	24,4	24,8

